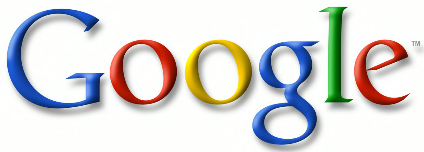
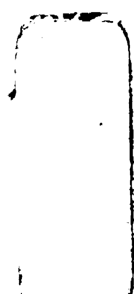
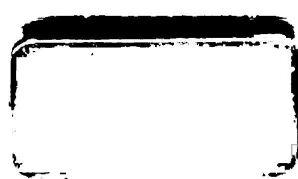






ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

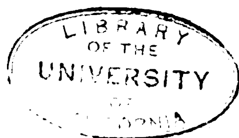
Pharmacodynamie et de Thérapie

PUBLIÉES PAR

J. J. Abel, Baltimore; **S. Arloing,** Lyon; **E. Behring,** Marbourg; **C. Binz,** Bonn; **A. de Bókay,** Budapesth; **Ch. Bouchard,** Paris; **L. Brieger,** Berlin; **V. Cervello,** Palerme; **A. R. Cushny,** Ann Arbor; **J. Denys,** Louvain; **P. Ehrlich,** Francfort; **W. Filehne,** Breslau; **Th. R. Fraser,** Edimbourg; **J. Geppert,** Giessen; **P. Giacosa,** Turin; **E. Gley,** Paris; **F. Henrijean,** Liége; **J. F. Heymans,** Gand; **R. Kobert,** Rostock; **T. Lauder Brunton,** Londres; **R. Lépine,** Lyon; **O. Liebreich,** Berlin; **M. v. Nencki,** St Pétersbourg; **J. Pohl,** Prague; **G. Pouchet,** Paris; **J. L. Prevost,** Genève; **E. Roux,** Paris; **B. J. Stokvis,** Amsterdam; **H. v. Tappeiner,** München; **E. Van Ermengem,** Gand.

VOLUME IX

avec 36 figures intercalées dans le texte et 2 planches





BRUXELLES
H. LAMERTIN, ÉDITEUR,
20, RUE DU MARCHÉ-AU-BOIS.

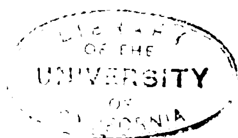
PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR,
8, PLACE DE L'ODÉON.

1901.

Crocker

TABLE DES MATIÈRES DU VOLUME IX.





Contribution à l'étude des préparations solubles de la théobromine

PAR

E. IMPENS.

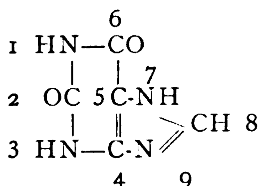
On serait, à première vue, porté à attribuer au noyau xanthique le pouvoir diurétique qui caractérise d'une manière si remarquable la théobromine, la caféine et d'autres dérivés méthyliques de la xanthine. Mais celle-ci, le type des substances de ce genre, est pour ainsi dire dépourvue de pareille propriété, et il paraît évident que l'action sur la sécrétion rénale est intimement liée à l'introduction dans la molécule, d'un ou de plusieurs radicaux alcooliques.

Bien plus, le nombre et l'emplacement respectif de ces radicaux, sont deux facteurs d'une influence prédominante sur l'énergie de l'effet diurétique.

Ce n'est que tout récemment que l'étude pharmacodynamique comparée des diverses combinaisons méthylées de la xanthine a pu être entreprise; en effet, la plupart de ces produits, excepté naturellement la caféine et la théobromine, n'étaient pas accessibles à l'expérimentation, à cause de l'extrême difficulté de leur préparation.

Les progrès accomplis par E. Fischer, de Berlin, dans la synthèse des dérivés de la « purine », substance-mère hypothétique de l'acide urique et de la xanthine, sans arriver à une production idéalement aisée de ces dérivés, ont toutefois permis d'en obtenir une quantité suffisante pour réaliser les quelques essais nécessaires à la caractérisation de leurs propriétés physiologiques.

En considérant la structure de la xanthine, ou 2-6 dioxypurine,



nous constatons que trois séries de composés méthylés sont possibles, selon que nous remplaçons un, deux ou trois atomes d'hydrogène par un radical alcoolique.

Il est clair également que les mono- et les bidérivés seuls peuvent présenter des isoméries, d'après la position qu'occupe dans la molécule le ou les hydrogènes substitués. Parmi les premiers nous connaissons 3 isomères : les monométhyle-xanthines 1, 3 et 7 ; la dernière de celles-ci (7) est l'hétéroxanthine, qui se trouve dans l'urine normalement; parmi les seconds, nous avons : la diméthylexanthine 1-3 ou théophylline, la diméthylexanthine 1-7 ou paraxanthine, et la diméthylexanthine 3-7 ou théobromine. Enfin la troisième catégorie n'a qu'un seul représentant : c'est la triméthylexanthine, ou caféine, un des produits de cette espèce les plus anciennement connus.

D'après les différents travaux qui se rapportent à ce sujet, travaux qui sont loins pourtant d'être définitifs, et dont les résultats ne sont pas tous concordants, il semble que le pouvoir diurétique ait une tendance à croître avec le nombre des radicaux alcooliques; mais en même temps augmente aussi l'action sur le système nerveux. Il en résulte que la caféine, qui devrait avoir sur la sécrétion rénale l'effet le plus puissant, se trouve être précisément une des combinaisons xanthiques ayant le moins de valeur à cet égard. En effet, v. SCHRÖDER (Arch. f. exp. Path. und Pharm. Bd. XXII, p. 39) a démontré dans ses essais, restés classiques, que la forte vasoconstriction d'origine nerveuse centrale qu'amène la caféïne, met obstacle au développement de son action diurétique; par contre, chez les sujets chloralisés, chez lesquels ce resserrement des vaisseaux ne peut plus se produire, la diurèse s'exerce avec une énergie indéniable.

C'est à la suite de ces essais que v. SCHRÖDER étudia d'autres dérivés de la xanthine, espérant trouver parmi eux une substance dénuée de l'action excitante centrale de la caféine, mais douée toutefois de ses propriétés diurétiques. Et, en réalité, il découvrit que la théobromine, qui est bien loin d'être aussi toxique que la triméthylexanthine, qui, à l'encontre de celle-ci, n'a que peu d'action sur les centres nerveux et sur le cœur, lui est de beaucoup supérieure comme agent de la diurèse. Alors qu'avec une dose de 0,2 gr. à 0,5 gr. de caféine, à laquelle il devait ajouter 2 c.c. de paraldéhyde pour éviter les convulsions, il n'obtenait qu'un effet diurétique de 4,45 % à 7,23 % du poids du lapin en expérimentation, il observa, à la suite de l'administration d'un gramme de théobromine, une diurèse de 7,3 % à 12 %, sans que cette base donnât naissance à aucun autre symptôme.

Voici, d'ailleurs, afin que l'on en puisse juger plus aisément, les détails des deux essais les plus typiques, que v. SCHRÖDER a entrepris avec la caféine et la théobromine :

Essai XXI.

Lapin mâle de 1700 gr.

Quantité d'urine sécrétée de 9 h. 15' du matin à 11 h. 45' : 5,0 gr., ce qui fait 2 gr. par heure.

A 12 h., application per os de 0,5 gr. de caféine, plus 2 c.c. de paraldéhyde avec 20 c.c. d'eau.

De 12 à 13 h., sécrétion de 45,53 gr. d'urine = 45,53 gr. par heure.

De 13 à 14 h. 30', sécrétion de 57,90 gr. d'urine = 38,6 gr. par heure.

A 15 heures, l'animal gît sur le flanc, les réflexes sont fortement exagérés.

De 14 h. 30' à 16 h., sécrétion de 26,73 gr. d'urine = 17,80 gr. par heure.

De 16 h. à 18 h., sécrétion de 12,43 gr. d'urine = 6,21 gr. par heure.

De 18 h. à 20 h. 30', sécrétion de 11,34 gr. d'urine = 4,53 gr. par heure.

A 19 heures, l'animal reprend sa position normale ; il ne peut maîtriser qu'avec peine les mouvements de ses extrémités.

De 20 h. 30' à 10 h. 30' du lendemain, il y eût 1,82 gr. d'urine sécrétée par heure.

Le surlendemain il survint des phénomènes paralytiques et l'animal succomba.

La somme des quantités d'urine sécrétée en 6 heures, après l'ingestion du médicament, fut donc de 135,59 gr. D'après la normale on se serait attendu à 12 gr. ; l'excès fut donc de 123,59 gr., soit un effet diurétique de 7,23 o/o du poids du lapin (1).

Dans une autre expérience faite sur un lapin de 2370 gr. avec une même dose de caféine, l'animal ne mourut pas ; l'effet diurétique ne fut ici que de 5,28 o/o.

Essai XXXV.

Lapin mâle de 1440 gr.

De 9 h. 50' à 12 h. 50', la quantité d'urine sécrétée fut de 7,0 gr., soit 2,33 gr. par heure.

A 12 h. 55', il fut administré 1 gr. de théobromine avec 10 c.c. d'eau per os.

De 13 h. à 15 h. 10', sécrétion de 108,84 gr. d'urine = 50,23 gr. par heure.

De 15 h. 10' à 17 h. 10', » » 36,23 gr. » = 18,11 gr. » »

De 17 h. 10' à 19 h. 10', » » 14,48 gr. » = 7,24 gr. » »

De 19 h. 10' à 21 h. 15', » » 16,20 gr. » = 7,77 gr. » »

De 21 h. 15' à 10 h. 15' du lendemain, sécrétion de 57,83 gr. d'urine, soit 4,47 gr. par heure.

Enfin, de 10 h. 15' à 13 h. 15', il y eut 7 gr. d'urine sécrétée, ce qui revient à la normale de 2,33 gr. par heure.

L'animal se comporta d'une façon absolument normale et mangea avec appétit lorsque l'expérience fut terminée.

---

(1) J'ai reproduit les données de v. SCHRÖDER telles quelles ; je dois cependant faire remarquer qu'il s'est produit une erreur dans ses calculs, la somme des urines de 6 heures est notamment de 142,59 c.c. et non de 135,59 et l'effet diurétique de 7,66 o/o au lieu de 7,23 o/o.

La quantité totale d'urine sécrétée en 6 heures, après l'application d'un gramme de théobromine, fut donc de 158,55 gr.; normalement, il n'y aurait eu que 13,98 gr. Il se présenta donc un excès de 144,37 gr., ce qui donne un effet diurétique de 10,02 %. Pour la facilité de la comparaison, les effets diurétiques, dans les essais avec la théobromine, ont été également calculés après 6 heures d'action; en réalité, à cause de la plus longue durée de la diurèse, ces effets sont plus considérables. Comme dans cette expérience, la durée de la diurèse fut de 21 heures, la quantité totale d'usine comporta par conséquent 233,58 gr.; d'après la normale, il n'y aurait eu que 48,93 gr.; il y eut donc en tout un excédent de 184,65 gr., soit un effet diurétique de 12,80 % du poids de l'animal.

J'ai cru nécessaire de rapporter ces essais tels que l'auteur les a décrits lui-même, afin que l'on puisse les comparer à ceux que j'ai entrepris et que je relaterai dans le cours de ce travail.

v. Schröder tire de ses expériences les conclusions suivantes :

« 1° La théobromine n'occasionne aucune excitation centrale et produit par suite, sans que l'on soit obligé de lui adjoindre un narcotique, à dose suffisante, une diurèse considérable.

2° Elle n'amène, même dans les cas des diurèses les plus énergiques, aucun phénomène d'intoxication.

3° Les effets diurétiques avec la théobromine sont supérieurs à ceux que l'on obtient avec la caféine.

4° La durée de la diurèse avec la théobromine est beaucoup plus longue qu'avec la caféine. »

Les isomères de la théobromine, la théophylline et la paraxanthine, ne le lui céderaient en rien, en ce qui concerne l'effet diurétique, d'après N. Ach, qui s'est appliqué à l'étude de ces divers produits (Arch. f. exp. Path. und Pharm. Bd. 44 p. 319).

Au contraire, leur influence sur le rein serait plus intense encore.

Il a obtenu, en effet, pour la valeur diurétique des principales substances de la série xanthique, les chiffres suivants :

Caféine.	Effet diurétique moyen : 2,65		
(Rapport entre la quantité d'urine obtenue, et la normale = 1)			
Théobromine	Effet diurétique : 3,8 à 4,3.		
Paraxanthine (sel double avec salicylate de Na)	»	»	7,8.
Théophylline	»	»	6,3.
Hétéroxanthine	»	»	0,84.
Hétéroxanthine (sel double avec salicylate de Na)	»	»	2,1.
3-Méthylexantine	»	»	1,78.
Xanthine (injection dans la V. Jugulaire)	»	»	1,79.

D'après ces essais, il semble que, pour les diméthylexanthines, les positions 1-3 et 1-7 des radicaux alcooliques soient d'une influence prépondérante dans la génèse du pouvoir diurétique, tandis que la position 3-7 serait, à ce point de vue, inférieure. Il faut toutefois accueillir ces résultats avec réserve. Il est certain que les chiffres obtenus par Ach pour la théobromine sont bien au-dessous de la réalité. Enfin, les résultats concernant la 3-monométhylexanthine ne concordent pas avec ceux d'Albanese. L'auteur le reconnait d'ailleurs lui-même et attribue la différence à ce qu'il n'a opéré que sur des animaux narcotisés, alors qu'Albanese a employé des sujets à l'état de veille.

Nous ne trouvons, dans la publication de N. Ach, aucun éclaircissement non plus sur l'action de la paraxanthine et de la théopylline sur le système nerveux central; cette dernière substance d'ailleurs paraît passablement toxique, puisque, comme nous le voyons dans l'essai nº II, fait avec ce produit, 1 gramme administré per os, et même non entièrement dissous, a suffi pour amener la mort d'un lapin de 1550 gr.

Albanese a étudié les effets physiologiques des monométhylexanthines, d'une façon plus approfondie (Arch. f. exp. Path. und Pharm. Bd. 43, p. 305). Il a observé que ces substances produisent chez la grenouille, de même que la caféine et la théobromine, de la raideur musculaire et de la paralysie précédée d'un très faible état tétanique, qui peut même faire entièrement défaut, et qui d'ailleurs n'est en rien comparable aux convulsions violentes et prolongées de la caféine. Elles diffèrent également de celle-ci par leur action sur le cœur, qui ressemble plutôt à celle de la théobromine. Cet organe constitue dans les intoxications, par les monométhylexanthines, l'ultimum moriens; alors que la grenouille est déjà entièrement paralysée, il continue à battre vigoureusement. Il faut de très hautes doses pour amener un renforcement de la systole, de l'augmentation ou de la diminution de la fréquence, ainsi que d'autres irrégularités de fonctionnement. En somme, ces bases se rapprochent beaucoup, par leurs caractères, de la xanthine.

Il en est de même de leur action chez les animaux à sang chaud : assez peu toxiques, il faut de 0,3 à 0,4 gr., en injection intraveineuse, pour tuer un chien, et 0,5 gr. pour amener la mort d'un lapin. L'hétéroxanthine, ou 7-méthylexanthine ne produit jamais de convulsions; la 3-méthylexanthine par contre peut donner naissance à des convulsions toniques et cloniques, infiniment plus faibles toutefois que celles qu'engendre la caféine.

La propriété la plus importante des monométhylexanthines, celle qui les distingue nettement de la xanthine, est certainement leur effet

diurétique : des doses moyennes de 0,25 gr. d'hétéroxanthine, injectées dans la veine jugulaire, amènent une sécrétion urinaire de 15 à 20 fois supérieure à la normale; lorsque la diurèse a atteint ce maximum, elle diminue progressivement tout en restant encore assez élevée pendant un temp plus ou moins long; si l'on renouvelle l'injection, elle se reproduit avec la même intensité que la première fois.

Il en est un peu différemment avec la 3-méthylexanthine; à la suite d'injections de 0,15 à 0,2 gr. dans la jugulaire, la quantité d'urine devient de 90 à 100 fois plus forte, seulement la sécrétion baisse bientôt d'une manière extraordinairement rapide et finit par tomber au dessous de la normale. Il faut rechercher la cause de ce fait dans la cristallisation de la 3-méthylexanthine dans les canaux urinifères du rein, qui se trouvent ainsi obstrués et mettent obstacle au travail de la glande. Ce n'est pas pourtant que cette substance soit moins soluble que l'hétéroxanthine; mais celle-ci ne s'élimine pas aussi rapidement et a par conséquent à sa disposition un volume de liquide plus grand pour se maintenir en dissolution.

La 1-monométhylexanthine n'a pu être essayée comme diurétique; sa préparation est encore trop laborieuse pour pouvoir s'en procurer suffisamment.

Les expériences d'ALBANESE devraient donc (à l'encontre de celles de ACH) nous porter à la conclusion que les dérivés xanthiques monométhylés sont les plus aptes à exciter la fonction rénale, et que la position 3 paraît surtout favorable. — En réalité tous ces faits sont bien peu établis.

Si intéressantes, toutefois, que soient toutes ces substances, au point de vue théorique, elles ne sont pas applicables en thérapeutique. Les monométhylexanthines sont trop peu solubles, même en milieu alcalin, par suite leur résorption difficile et inconstante. De plus, la 3-monométhylexanthine, même si elle était rendue soluble, ne pourrait être utilisée, à cause du défaut qu'elle présente de cristalliser dans les tubes urinifères du rein.

Quant à la paraxanthine et à la théophylline, ce sont des produits dont l'étude est loin d'être achevée et dont la valeur ne peut encore être appréciée avec certitude. Dans l'état actuel de nos connaissances, nous sommes cependant en droit de faire à la paraxanthine le reproche de son insolubilité, qui ne se laisse pas même corriger par la formation d'un sel double; la théophylline, plus soluble, nous apparaît plus toxique que la théobromine; par la position 1-3 de ses groupements méthylés, elle semble sous le rapport de l'action nerveuse centrale se rapprocher de la caféine, et participer ainsi, partiellement du moins, aux défauts de cette substance.

Nous sommes donc, à la suite de toutes ces considérations, forcés de reconnaitre que la théobromine est encore à l'heure actuelle un des médicaments les plus précieux, que nous ayons pour agir sur la fonction rénale.

Toutefois la théobromine en substance présente elle-même certains inconvénients : son peu de solubilité dans l'eau, par suite l'inconstance de sa résorption et de son action. Mais avec elle il y a moyen de remédier à ce défaut. Elle possède en effet un double caractère : elle est à la fois base et acide. Comme base, elle se combine aux acides pour former des sels plus ou moins solubles dans l'eau; malheureusement sa basicité est si faible, que ces combinaisons se décomposent déjà partiellement dans l'eau, et sont par ce fait inutilisables. Un seul, pourtant, de ces sels a été préconisé : le salicydate de théobromine; mais il est trop peu soluble, lui-même, pour présenter un avantage quelconque sur la théobromine en nature.

Grâce, d'autre part, à ses propriétés d'acide, faible il est vrai, la théobromine se dissout très facilement dans les lessives d'alcalis caustiques. Ces solutions, obtenues avec des quantités équivalentes de théobromine et d'alcali, donnent, après évaporation à sec, des sels qui sont constitués de telle sorte, que l'atome d'hydrogène, lié à l'azote secondaire, qui reste encore libre, se trouve remplacé par un atome, ou une valence de métal alcalin. Ces sels, ceux de potassium et de sodium surtout, sont très solubles dans l'eau.

Mais les affinités de la théobromine sont excessivement faibles : ces solutions présentent toujours une forte réaction alcaline. Cette réaction, et les propriétés caustiques qui en résultent, mettent obstacle à l'emploi de ces préparations telles quelles.

Les bases alcalino-terreuces donnent avec la théobromine des produits analogues; moins caustiques, ils ont le défaut d'être trop peu solubles dans l'eau, et n'ont donc aucun avantage.

Espérant obtenir, d'une autre manière, des combinaisons solubles dans l'eau, mais dépourvues des inconvénients que je viens de citer, j'essayai de préparer les acides théobromine-carbonique et théobromine-sulfonique. Ces produits furent obtenus d'une façon analogue à celle que l'on emploie pour les dérivés similaires de la caféine; ils se distinguent nettement de la théobromine par leur forme cristalline, macroscopiquement, aussi bien que microscopiquement. Ces deux acides sont insolubles dans l'eau; mais ils se dissolvent dans le carbonate de soude, dont ils déplacent l'acide carbonique; toutefois leurs sels ne sont pas d'une solubilité remarquable.

Pour me convaincre que ces produits possédaient encore une action sur la sécrétion urinaire, je fis quelques essais sur le pigeon, qui est, comme on le sait, excessivement sensible aux diurétiques. Avec une dose de 0,15 gr. d'acide théobromine-carbonique, sous forme de sel de sodium, administré per os, je pus observer un effet diurétique évident. Mais il était beaucoup inférieur à celui que donne une dose équivalente (0,12 gr.) de théobromine, de sorte que la nouvelle combinaison ne pouvait nullement concourir avec la substance originale.

L'acide théobromine-sulfonique, administré au pigeon, à la dose de 0,3 gr., dissous dans la quantité nécessaire d'une solution de Na_2CO_3, provoqua une diurèse assez forte, qui pourtant n'atteignait de loin pas celle qu'amène la théobromine. Il n'y avait donc aucun avantage à attendre de ces combinaisons; la chose n'avait d'ailleurs rien d'étonnant, car il en est de même pour les symphorols, ou sels de l'acide caféine-sulfonique, que l'on a naguère préconisés comme succédanés de la caféine, et qui n'ont qu'une action tout-à-fait insignifiante et inutilisable sur la sécrétion rénale. L'aide caféine-carbonique également perd toute valeur à ce point de vue, ainsi que j'ai pu m'en convaincre par divers essais que j'ai entrepris à cette intention. Voici la relation de deux de ces expériences, que je reproduis comme preuve de ce que je viens d'avancer.

I. Lapin mâle de 1500 gr.

Quantité d'urine sécrétée de 9 h. 50' à 14 h. 50' : **26,5** c.c., soit **5,3** c.c. par heure.

A 14 h. 55', administration, *per os*, de 0,35 gr. de caféine carbonate de sodium, dissout dans 15 c.c. d'eau. (J'ai évité l'application intraveineuse du médicament; c'est là un procédé tout-à-fait anormal; on obtient avec des substances sans valeur, souvent un effet diurétique, lorsqu'on les injecte dans le sang, alors qu'administrées par les voies digestives, ou même sous la peau, elles ne produisent aucun effet utilisable.)

De 14 h. 55' à 15 h. 55',	sécrétion	de	2,5 c.c.	d'urine.
De 15 h. 55' à 16 h. 55',	»	»	8 c.c.	»
De 16 h. 55' à 17 h. 55',	»	»	4 c.c.	»
		Total	14,5 c.c. d'urine en 3 h., soit **4,83** c.c. pr heure.	

Donc un effet diurétique absolument nul.

II. Lapin mâle de 2600 gr.

Quantité d'urine sécrétée de 9 h. 15' à 11 h. 11 h. 15' : 33 c.c., soit **16,55** par heure.

A 11 h. 18', administration, per os, de 0,45 gr. de symphorol Na, ou caféine-sulfonate de sodium, dissout dans 15 c.c. d'eau.

De 11 h. 18' à 12 h. 18',	sécrétion	de	3,5 c.c.	d'urine.
De 12 h. 18' à 13 h. 18',	»	»	11,0 c.c.	»
De 13 h. 18' à 14 h. 18',	»	»	6,0 c.c.	»
De 14 h. 18, à 15 h. 18',	»	»	7,0 c.c.	»
		Total	27,5 c.c. d'urine en 4 h., soit 6,75 c.c. pr heure.	

Si l'effet diurétique a été dans ces essais complètement négatif, cela ne veut pas dire que ces substances soient entièrement inactives. Loin de là; ainsi, administrées, au pigeon elles produisent une diurèse, médiocre il est vrai, mais évidente cependant. Le rein du pigeon se laisse influencer, avec une facilité extrême, par les diurétiques, de sorte que l'expérience sur ces animaux peut nous révéler la moindre tendance à agir sur la sécrétion urinaire, qu'un médicament puisse receler.

Le lapin est moins sensible aux diurétiques, et l'homme en général, moins encore; par ce fait, toute substance qui ne produit aucun effet chez ce rongeur, peut être considérée comme inutile en thérapeutique.

La première préparation de théobromine, ayant une valeur pratique, fut livrée par Gram de Copenhague. Il allia la théobromine sodée, ou sel de sodium de la théobromine, dont nous nous sommes déjà occupés plus haut, avec le salicylate de sodium, en quantité équivalente, et ce soit-disant sel double trouva dans la suite sa place dans l'arsenal médical, sous le nom de *diurétine*. Gram obtint avec cette diurétine des résultats plus constants et plus satisfaisants qu'avec la théobromine en nature.

« La théobromine pure, en substance, dit-il (Therapeutische Monats-» hefte. — Janvier 1890), est mal résorbée chez l'homme. Après résorp-» tion, elle a un effet diurétique considérable, sans avoir d'influence sur le » cœur. La diurèse est donc un phénomène purement rénal. La *diurétine* » est *bien résorbée* et agit comme un diurétique puissant. Elle paraît tout-» à-fait inoffensive; une fois seulement il a été observé du vertige à la » suite de son administration. *L'acide salicylique n'entre pour aucune part dans* » *l'effet diurétique*, car, dans plusieurs cas, il fut donné auparavant du » *salicylate de soude* seul sans *aucun résultat.* »

La diurétine ne resta pas la seule préparation de ce genre. Cédant à la mode du temps, qui avait prôné la lithine comme médicament uro- et litholytique merveilleux, on composa un produit analogue, où la soude était remplacée par la lithine. Ce médicament fut bientôt oublié, en même temps que tomba la vogue assez peu méritée des sels de lithium. On substitua d'autre part au salicylate de sodium de la diurétine le benzoate de sodium, sans grand avantage appararemment, car il subit le sort de la combinaison précédente. Il fut encore préparé une théobromine iodée, alliée à l'iodure de potassium : mais ce produit ne fut même pas recommandé comme diurétique!

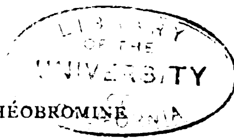
Le fait est que la diurétine de Gram demeura seule utilisée en pratique, et devint bientôt d'un emploi général et courant.

Et pourtant, représente-elle bien la forme la plus convenable, la plus

avantageuse pour l'administration de la théobromine? Si l'on examine quelque peu la chose à fond, il surgit inévitablement à l'esprit diverses questions, que l'on est étonné de n'avoir encore vu soulever nulle part : 1° Qu'est-ce, en somme, au point de vue purement chimique, que la diurétine ? 2° Est-ce bien un sel double, comme on l'avance? Sa solution dans l'eau, n'est-elle pas plutôt tout simplement un mélange de deux sels, qui ne contractent entre eux aucune combinaison? 3° Quelle est l'utilité de pareille association? 4° S'il y a utilité, n'y a-t-il qu'avec le salicylate et le benzoate de sodium que l'on puisse obtenir de semblables préparations? 5° Si ces deux sels aromatiques ne sont point indispensables, n'est-il pas préférable d'éviter leur emploi, pour leur substituer un sel plus inoffensif et d'une utilité moins douteuse? Car, dans la plupart des cas où la théobromine trouve son application, il est bien certain que le salicylate de sodium, à cause de ses effets secondaires facheux et même souvent nuisibles, est, sinon formellent contre-indiqué, du moins fort peu recommandable. Le benzoate de sodium n'est pas plus opportun; partageant quelques-uns des défauts du salicylate, il a été cependant considéré longtemps comme doué d'une innocuité relative; son usage toutefois est loin d'être aussi inoffensif qu'on ne l'admet généralement. Je reviendrai d'ailleurs dans la suite sur ce point.

J'aborderai maintenant, en premier lieu, le côté chimique du problème que j'ai posé. Ainsi qu'il est connu, la diurétine se prépare en dissolvant une quantité donnée de théobromine dans un volume exactement calculé d'une lessive de soude caustique d'un titre préalablement établi, et en additionnant cette solution d'une quantité équivalente (une molécule par une molécule) de salicylate de sodium. Le mélange ainsi obtenu est ensuite évaporisé à siccité. Le produit contient donc pour une molécule de théobromine sodée justement une molécule de salicylate. Il se présente avec les caractères suivants, ainsi que les décrit KOBERT, dans son Traité de Pharmacothérapie : « C'est une poudre blanche, amorphe, hygroscopique, soluble à 50 % dans l'eau chaude, de réaction fortement alcaline. Ceci provient de ce que nous n'avons pas à faire ici à un mélange de théobromine et de salicylate de sodium, qui ont tous deux une réaction neutre, mais bien à un sel double de nature basique, car c'est une *combinaison* de théobromine sodée avec le salicylate de sodium. »

Les explications que donnent KOBERT au sujet de la constitution du produit, semblent assez extraordinaires. La réaction alcaline qu'il rapporte à la nature basique du sel double, provient tout bonnement de la théobromine sodée; que la diurétine ne soit qu'un simple mélange et non



une combinaison, la réaction de ces solutions en sera tout aussi alcaline. Au contraire, s'il y avait réellement eu une action chimique des deux produits l'un sur l'autre, s'il y avait eu formation véritable d'un sel double, nous aurions pu nous attendre à une réduction de la basicité.

Que la diurétine n'est pas un mélange de théobromine en substance avec du salicylate de sodium, comme nous l'assure KOBERT, nous semble assez naturel! Nous ne voyens, en effet, pas trop à quoi pareille mixture pourrait servir, attendu que le salicylate de sodium n'a qu'un pouvoir tout-à-fait insignifiant, sinon nul, de dissoudre la théobromine, et que par conséquent son addition n'aiderait guère à la dissolution de cette base dans l'eau. Un tel mélange serait une absurdité.

Il y a confusion ici entre les propriétés de la caféine et de la théobromine.

La caféine se dissout très facilement dans les solutions de benzoate et de salicylate de sodium; mais c'est un erreur d'attribuer la même particularité à la théobromine. Du reste cette dissolution de la caféine, grâce aux deux sels en question, est un phénomène bien caractéristique pour cette base; il ne s'agit pas ici d'un mélange, mais il y a combinaison nettement déterminée.

Nous avons un moyen bien simple de le prouver : Il suffit de se rappeler la loi de van 'T HOFF sur les points de congélation des solutions : « Les solutions équimoléculaires de n'importe quelles substances dans un même volume d'eau, présentent le même abaissement du point de congélation ». Nous pouvons donc par l'observation des points de congélation, en tenant compte toutefois des déviations qu'ils subissent par suite des phénomènes de dissociation, reconnaître si deux produits qui se trouvent dissous ensemble dans un même milieu, entrent en combinaison chimique, ou reste simplement en mélange. Si nous déterminons donc successivement les points de congélation d'une solution aqueuse saturée de caféine, d'une solution donnée du salicylate de sodium; et enfin de cette même solution de salicylate saturée à son tour de caféine, il est évident que si la caféine en se dissolvant se combine au salicylate, le point de congélation de cette dernière solution ne pourra être plus bas que celui de la solution primitive de salicylate, ou du moins, s'il y a dissociation partielle prononcée, il devra toujours se trouver plus haut que la somme des points de congélation de la solution de salicylate de soude et de la solution dans un même volume d'eau d'une quantité de caféine égale à celle que l'on a employée à suturer la solution de salicylate.

Le nombre de molécules en effet ne sera pas augmenté dans ce cas,

ou ne sera qu'en raison du dégré de dissociation du produit de la réaction. Par contre, s'il n'y a que mélange, le nombre de molécules de salicylate s'accroîtra de celui des molécules de caféïne, et le point de congélation s'abaissera en proposition de l'augmentation du nombre des molécules.

Or, j'observai que le point de congélation d'une solution saturée de caféine dans l'eau se trouve à — 0°,03; celui d'une solution à 10 °/₀ de salicylate de sodium à — 2°,08; enfin celui d'une solution de salicylate à 10 °/₀, saturée de caféine à — 1°,97.

Dans un autre essai, je trouvai le point de congélation d'une solution à 5 °/₀ de salicylate de sodium à — 1°,06 et celui de cette même solution saturée de caféine à — 0°,97.

Le point de congélation de la solution de salicylate saturée de caféine est donc toujours plus élevé que celui de la simple solution de salicylate; le nombre de molécules ne n'est donc pas augmenté par l'adjonction de la caféine; il y a eu *combinaison*. Théoriquement, le point de congélation aurait dû être la moyenne entre celui de la solution de salicylate et celui de la solution correspondante de caféine; donc dans notre premier essai $\frac{-2{,}08^{\circ} + -1{,}18}{2} = -1^{\circ}{,}63$, car le point de congélation d'une solution à 12,1 °/₀ de caféine (quantité correspondant à celle qui se dissout, dans une solution à 10 °/₀ de salicylate) se trouve d'après le calcul à $\frac{18{,}9 \times 12{,}1}{194} = -1^{\circ}{,}18$, le poids moléculaire de la caféine sèche étant 194 et l'abaissement du point de congélation pour un gramme-molécule de substance dans 100 parties d'eau étant de — 18°,9. Si nous trouvons dans l'expérience le point de congélation à — 1°,97, c'est à dire plus bas, c'est que le produit de la combinaison de salicylate de sodium et de caféine se dissocie lui-même partiellement dans l'eau. Il en est de même dans l'essai n° II où nous aurions dû trouver le point de congélation à $\frac{1{,}060 \times 0{,}59}{2} = -0^{\circ}{,}825$ alors que nous l'avons observé à — 0°,97.

Si par contre nous n'avions eu à faire qu'à un simple mélange, le point de congélation aurait dû s'abaisser jusqu'à la somme des points de congélation des solutions respectives des deux composantes à concéntration correspondante.

Dans le premier cas nous aurions dû avoir : — 2°,08 + — 1°,18 = — 3°,26, dans le second — 1°,060 + — 0°,59 = — 1°,65. Il ressort clairement de ces essais que la caféine se combine au salicytate de sodium lorsqu'on l'introduit dans les solutions de ce dernier produit.

Simultanément avec mes expériences, le Dr PAUL de Tubingen,

s'est livré à des recherches sur le même sujet; il a étudié la nature des solutions de la caféine avec le benzoate de sodium au moyen de leur conductibilité électrique. J'ai eu plus tard connaissance de ces essais, à la suite de la communication de PAUL à la « Deutsche Aertze und Naturforscher Versammlung in Aachen Sept. 1900 », alors que mon travail était entièrement terminé depuis plus de neuf mois.

C'est donc par analogie que l'on a erronément attribué au salicylate et au benzoate de sodium une action adjuvante réelle dans la dissolution de la théobromine; et c'est là précisément l'origine des soi-disant sels doubles aromatique de la théobromine. Dans ces préparations la base organique n'entre en dissolution que grâce à la soude caustique avec laquelle elle se combine; les sels aromatiques n'y sont pour rien, ou du moins, presque pour rien.

On pourrait croire, à cause de la forte alcalescence des solutions de théobromine sodée, que cette combinaison se dissocie presque entièrement dans l'eau, et que les deux substances primitives s'y trouvent pour ainsi dire séparées, n'ayant plus d'autre lien entre elles que justement ce qu'il faut pour maintenir la théobromine en dissolution. Ici également, l'étude des points de congélation nous apprend que, quoiqu'il y ait évidemment un certain degré de dissociation, les deux substances restent cependant en majeure partie combinées. J'observai en effet que le point de congélation d'une solution au cinquième normale de soude caustique se trouve à $0^o,69$; si l'on dissout dans cette lessive une quantité équimoléculaire de théobromine, soit 0,36 gr. pour 10 c,c. de solution de soude caustique, le point de congélation remonte à — $0^o,478$, ce qui prouve que le nombre de molécules ne s'est pas accru et par suite qu'il y a combinaison. De plus, pour la théobromine sodée, à la concentration à laquelle nous avons fait nos essais, nous aurions dû avoir théoriquement $\frac{18,9 \times 4,4}{202} = -0^o,412$ comme point de congélation; or nous avons trouvé — **$0^o,478$**, ce qui ne s'en écarte pas beaucoup et prouve que la dissociation de la théobromine sodée dans l'eau est excessivement minime. On pouvait d'ailleurs s'y attendre; un acide aussi faible que la théobromine peut à peine dissocier dans ses solutions salines. Si la théobromine sodée a une réaction alcaline si forte, cela n'est donc pas causé par la dissociation du produit, mais par ce fait que la théobromine se laisse déplacer par les acides les plus faibles, par l'acide carbonique, par les acides de la teinture de tournesol et de tous les indicateurs, par toutes les substances qui présentent des propriétés d'acide ou des affinités pour la soude caustique, si minimes qu'elles soient. De là la causticité du produit!

En appliquant les principes de la cryoscopie, il nous est de même facile de déterminer si la *diurétine* est un simple mélange de théobromine sodée et de salicylate de soude, ou bien, si ces deux substances ont contracté entre elles une liaison chimique quelconque.

Nous avons vu que le point de congélation d'une solution de 0,36 gr. de théobromine dans 10 c.c. d'une lessive de soude caustique au 1/5 normale, c'est-à-dire de 0,44 gr. de théobromine sodée dans 10 c.c. d'eau se trouve à — 0°,478; celui d'une solution de théobromine sodée à 0,44 gr. sur 20 c.c. d'eau est à — 0°,24 (calculé : — 0°,239). Le point de congélation d'une solution équivalente de salicylate de sodium (0,32 gr. sur 20 c.c. d'eau) se trouve à — 0°,31. Si nous dissolvons maintenant 0,44 gr. de théobromine sodée et 0,32 gr. de salicylate de sodium ensemble dans 20 c.c. d'eau, nous obtenons une solution de diurétine correspondant aux deux solutions précédentes de ses composantes. Le point de congélation de cette solution de diurétine, si celle-ci est réellement une combinaison, ne pourra guère être plus bas que — 0°,31, qui est le plus bas des points de congélation des deux composantes. Il est plutôt probable qu'il devra se trouver plus haut, ainsi que nous l'avons vu pour le cas de la caféine et du salicylate de soude; si au contraire nous avons à faire à un mélange, le point de congélation devra naturellement être égal à la somme des points de congélation des composantes : — 0°,24 + 0°,31 = — 0°,55. Or ce point est, comme j'ai pu l'observer à — 0°,54. Il est donc bien évident que la *diurétine en solution n'est qu'un mélange*, et n'a rien de commun avec une combinaison chimique.

Il est toutefois certains sels doubles, comme les aluns, par exemple, qui en solution sont également complètement dissociés, et pourtant cristallisent de telle sorte que leur cristaux contiennent toujours une proportion identique et invariable des deux sels qui entrent dans leur composition.

Ce fait s'applique-t-il à la diurétine? C'est possible; je suis en effet parvenu à faire cristalliser des solutions concentrées de diurétine; ces cristaux étaient faciles à distinguer de ceux que forme le salicylate de sodium seul et de ceux de la théobromine sodée. De plus la teneur en théobromine de ces cristaux se rapprochait nettement de celle que l'on pouvait en exiger théoriquement.

Ce résultat ne s'obtient cependant pas avec toutes les diurétines du commerce, dans lesquelles les quantités respectives des substances composantes varient souvent dans de fortes limites; la quantité de théobromine varie en effet de 45 °/₀ à 49 °/₀; théoriquemment, il en faut un peu plus de 49 °/₀.

Peu importe d'ailleurs ; le seul fait qui nous intéresse ici, c'est qu'en solution, la diurétine n'est qu'un simple mélange ; on pourrait donc obtenir un produit analogue avec n'importe quel autre sel.

On doit se demander maintenant l'avantage qu'il y a à adjoindre un sel à la théobromine sodée, pour son emploi en thérapeutique, attendu que d'après ce que nous venons de voir ils paraissent assez superflus en l'affaire.

L'addition du salicylate de soude à la théobromine sodée n'aide en rien non plus à sa conservation ; la diurétine est aussi altérable que la théobromine sodée, aussi hygroscopique, aussi sensible à l'action de l'acide carbonique de l'air ; elle n'est pas plus soluble non plus. Pourquoi donc n'emploie-t-on pas la théobromine sodée, comme préparation diurétique ?

Mais nous savons que par elle-même la théobromine sodée est trop caustique et aurait un effet déplorable sur la muqueuse des voies digestives, de l'estomac en particulier. Or, par l'adjonction de certains sels à la solution de théobromine sodée, on est à même d'amoindrir considérablement cette causticité, de façon à la rendre plus ou moins inoffensive, ainsi que j'aurai l'occasion de le démontrer par la suite.

Voilà, à mon avis, la seule raison d'être des préparations comme la diurétine.

Si au point de vue chimique, nous pouvons donc remplacer les sels aromatiques par d'autres, du moment qu'ils nous conduisent au même résultat, c'est-à-dire qu'ils sont aptes à émousser suffisamment la causticité de la théobromine sodée — et nous verrons que le salicylate de sodium n'est pas ce qu'il y a de meilleur à cet égard — il est évident qu'au point de vue pharmacologique, nous aurons *tout intérêt* à remplacer le salicylate de sodium et le benzoate par des sels dépourvus de leurs défauts, dénués même de toute toxicité, et autant que possible doués de propriétés diurétiques incontestées, capables de soutenir et de renforcer l'action de la théobromine.

Le salicylate de sodium, en dehors des cas où il possède une action toute spécifique, comme dans le rhumatisme articulaire aigu et chronique, par exemple, ne présente en général absolument aucune indication dans les diverses affections où l'on peut avoir intérêt à se servir de la théobromine. Pourquoi donc associer ces deux médicaments. L'administration du salicylate n'est-elle pas accompagnée suffisamment d'inconvénients sérieux, graves même, pour que l'on ne cherche pas à l'éviter, lorsque son usage n'est pas formellement prescrit ?

D'un goût amer-douçâtre, provoquant souvent une répugnance insur-

montable, doué de propriétés très irritantes pour les voies digestives, ce produit est d'habitude fort mal supporté. Il n'est pas rare en effet d'observer à la suite de son ingestion, des pesanteurs, d'estomac, des aigreurs, des douleurs même, et jusqu'à des vertiges et des vomissements.

C'est un des médicaments qui donnent lieu le plus fréquemment à la manifestation de nombreux et singuliers phénomènes d'idiosyncrasie. Parmi ceux-ci je citerai en premier lieu ceux qui intéressent les tissus cutanés : érythèmes, dermatites diverses, purpura, dus en général à une irritabilité vasomotrice particulière de la peau (Heinlein, Bayr. ärzt. Intellig. blatt 1878, April, p. 145 — Erb. Berl. klin. Woch. 1884 n° 29, p. 445 — Dinneuf, Etude sur la médication salicylée. Thèse Paris 1878 — Lenhartz, Charité-Annalen 1885, Bd. X, p. 259 — Wheeler, Boston med. and surgic. Journ. 1878, oct. II, p. 502 — Raff, Munch. med. Woch. 1894, p, 515 — Beier, Arch. f. Dermatol. 1894 p. 125 — Freudenberg, Berlin. klin. Woch. 1878 p. 630 — etc.).

D'après Lewin, le salicylate de sodium produit dans environ 66 % des cas, une sudation abondante, qui fatigue fortement les malades; tout aussi désagréables sont les envies fréquentes d'uriner, qui se manifestent souvent consécutivement à son administration. La quantité d'urine n'est pas toujours augmentée; au contraire, elle peut être diminuée, surtout s'il y a eu une forte irritation des reins, suivie d'inflammation, car le salicylate est irritant pour le tissu rénal; on a remarqué qu'il donnait souvent naissance à de l'albuminurie, de l'hématurie. (Lewin : Die Nebenwirkungen der Arzneimittel. 3 Aufl. p. 442.)

Ce n'est pas seulement dans le rein qu'il peut se produire des hémorrhagies; parmi 174 malades, Lauriston E. Shaw (The Leancet 1889, I. 19 Jan.) a observé chez 6 % d'entre eux des épistaxis, des hémorrhagies buccales, pharyngées, gastriques, intestinales.

Les épistaxis sont souvent accompagnés de maux de tête, de bourdonnements d'oreille et d'autres symptômes cérébraux. Il se présente également des pertes de sang utérines.

De même que l'on constate, à la suite de l'emploi du salicylate, de l'hyperhémie des pyramides du rein, de même aussi on remarque assez souvent qu'il produit une congestion assez intense du foie (Potain, Lépine). Il peut quelquefois amener pour cette raison de l'ictère (Lépine, Semaine médicale 1885, p. 124, et 1892, p. 21).

Non moins désagréables sont les effets du salicylate de sodium sur les organes des sens. L'ouïe surtout est atteinte : les bourdonnements d'oreilles font rarement défauts; de plus, on a constaté de l'hyperhémie des

canaux semi-circulaires, du tympan, etc; ces troublent peuvent même aller jusqu'à amener la surdité. La vue, les centres cérébraux ne restent pas indemnes non plus.

Mais ce ne sont pas là les effets les plus dangereux de cette substance; elle est en outre douée d'une *toxicité* qui n'est pas à négliger. Une dose de 5 centigrammes est toujours rapidement mortelle chez la grenouille; on observe des phénomènes de paralysie bulbaire et rachidienne; la respiration cesse à un moment très précoce; le cœur, quoique fortement entrepris lui-même, résiste cependant un peu plus longtemps.

C'est l'action sur le cœur qui doit surtout nous intéresser ici, car la théobromine est spécialement indiquée dans les affections cardiaques. et peut-être dans quelques maladies du rein.

Un essai, entrepris sur le cœur isolé de grenouille, démontrera clairement l'influence nocive du salicylate de sodium sur cet organe.

Je me suis servi de l'appareil de WILLIAMS transformé, tel que je l'ai décrit dans une publication antérieure sur l'aspirine (Journal médical de Bruxelles 1900).

Charge optimum	Surcharge	Volume expulsé par 10 pulsations	Travail
20 centimètres	0 centimètre	3,6 c.c.	0 centigr.
» »	10 centimètres	3,4 »	34 »
» »	20 »	3,2 »	64 »
» »	30 »	2,8 »	84 »
» »	40 »	2,4 »	96 »
» »	45 »	2 »	90 »
» »	50 »	1,7 »	85 »
» »	0 »	3,7 »	0 »
Addition de 0,2 % de salicylate de sodium au liquide nutritif.			
20 centimètres	0 centimètre	3,3 c.c.	0 centigr.
» »	10 centimètres	2,9 »	29 »
» »	20 »	2,7 »	54 »
» »	30 »	2,3 »	69 »
» »	40 »	1,8 »	72 »
» »	45 »	1,5 »	67,5 »
» »	50 »	1,1 »	55 »
	0 »	3,1 »	0 »

Comme on ne voit, le salicylate de sodium réduit le travail fourni par le cœur; le volume de chaque pulsation diminue notablement, de sorte que le travail tombe de son maximum de 96 grammes-centimètres à 72 grammes-centimètres. Par contre la force absolue reste à peu près la même, puisque la hauteur de surcharge, où l'on observe le maximum de travail, se trouve dans les deux cas identique, soit 40 centimètres.

Il est inutile, je crois, d'insister sur la nocuité de pareille influence; dans les affections où déjà il y a pléthore veineuse en amont du cœur, celle-ci ne pourra qu'augmenter si le cœur réduit son travail, et les

symptômes ne feront que s'aggraver, sans parler des accidents qui peuvent survenir. Lauder Brunton affirme également l'action dépressive de cette substance sur l'activité cardiaque.

La même toxicité du salicycate se manifeste chez les animaux à sang chaud : il suffit d'un gramme pour tuer un lapin de deux kilogrammes et un chien de 5 kilogrammes. H. Köhler a observé également que chez ces deux espèces d'animaux il ralentit en respiration, diminue la fréquence du pouls et abaisse la pression sanguine.

Chez l'homme qui est plus sensible à cette substance, la toxicité varie individuellement dans de grandes limites; on considère généralement que la dose mortelle varie de 12 à 30 grammes (Nothnagel et Rossbach), seulement on a déjà observé des cas à issue létale avec des quantités bien plus faibles : 5 gr., 3,6 gr., même 0,7 gr. chez des enfants (Seiler. Jahresb. d. Ges. f. Nat. und Heilk. in Dresden 1876, oct.-juin, p. 158; Goodhart, Brit. med. Journ. 1880, 24 Jan. p. 130; Abelin, Med. Times and Gazette, 13 jan. 1877, p. 41). Je dois insister ici sur les dangers d'accumulation du salicylate dans les affections où le rein a perdu de sa perméabilité.

Les effets délétères du salicylate de sodium sur le cœur sont d'observation fréquente en clinique. En général le pouls devient plus rare, la pression artérielle après une période très courte d'élévation, tombe sous la normale, surtout si la dose est forte. Il se produit même parfois du collapsus cardiaque. Les formes bénignes de ce collapsus ne sont d'ailleurs pas rares du tout.

Parfois on a rencontré de l'éréthisme cardiaque, de l'accélération du pouls avec irrégularité et dicrotisme. (Goodhart, Brit. med. Journ. 1880, 24 Jan., p. 130.)

Les troubles de la respiration sont caractéristiques également; ils se manifestent sous forme de dyspnée; ils ne se produisent toutefois que chez les personnes qui y sont prédisposées. (Bochefontaine, Compt. rend. hebd. de la Soc. de Biologie, 1884, p. 414 — Weckerling Deutsches Arch. f. klin. Mediz. 1877, Bd. 19, p. 319.)

Enfin il me reste encore à rappeler les effets du salicylate sur les centres nerveux : maux de tête, foyers anesthésiques locaux, aphasie, symptômes d'excitation, troubles moteurs et autres; et sur la nutrition : exagération considérable du métabolisme azoté.

Il ressort par conséquent de toutes ces considérations que ce médicament présente des *contre-indications* bien *formelles*, à savoir :

1° Dans toutes les *néphrites,* à l'exception des cas de gravelle rénale (S. Sée).

2° Dans les *affections cardiaques,* lorsque la compensation est rompue, dans toutes les affections où le *cœur est entrepris* et le *pouls rapide,* par crainte de collapsus (SOULIER); dans les maladies graves du poumon, si la petite circulation est entravée.

3° Dans les cas où la muqueuse gastro-intestinale est irritable ou malade.

4° Dans la grossesse.

5° Il faut employer le médicament avec la plus grande précaution chez les enfants.

6° Il faut l'éviter chez les alcooliques, et les individus dont les centres nerveux sont très excitables.

Le salicylate de sodium est donc précisément contre indiqué, et cela bien formellement, dans les seules affections où la théobromine a l'occasion d'être administrée.

N'est-ce donc pas une erreur, un non-sens même, d'allier ces deux substances.

On a prétendu que le salicylate possède une action diurétique (HUBER, Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. 41, 1878; SIEGERT, Münch. med. Woch. 1897, N° 20/21; BARDIER-FRÄNKEL, Compte-rendus de la Soc. de Biologie, n° 7; AUFRECHT, Therap. Monatshefte, 1893, p. 435). Surtout dans les cas de pleurésie avec épanchement, on aurait constaté à la suite de l'usage de ce produit, une résorption rapide de l'exsudat et par suite une forte élimination rénale.

Mais cet effet du salicylate est absolument contesté; GRAM le *nie* tout-à-fait. La plupart des auteurs ne le relatent même pas. L'acide salicylique, comme nous l'avons vu, est plutôt nuisible pour le rein; il le congestionne. Cette congestion peut aller jusqu'à l'inflammation d'où albuminurie et hématurie. La faible diurèse, qui peut se produire à la suite de ce phénomène, n'est donc qu'un effet secondaire, qui n'a pas de valeur pratique. Le plus souvent même, cette augmentation de la quantité d'urine fait défaut. D'ailleurs, on a souvent confondu les envies d'uriner que l'on observe pendant l'usage du salicylate, avec une véritable action diurétique. En présence des inconvénients et de la toxicité inhérents à cette substance, il paraît par conséquent peu logique de vouloir employer ses propriétés diurétiques, qui sont bien loin d'être démontrées.

Si l'on se remémore maintenant les effets secondaires désagréables que l'on a pu constater à la suite de l'emploi de la diurétine, notamment du dégoût, du malaise, de l'anorexie, de la douleur d'estomac, des vomissements, de la diarrhée, des éruptions cutanées multiples, de l'hématurie des

bourdonnements d'oreilles, des maux de tête, des excitations, des angoisses, des collapsus, des vertiges, ne semble-t-il pas naturel d'incriminer le salicylate de soude? (Voir PFEFFER, Centralbl. f. die ges. Therap., 1891, p. 451; HÖHN, Wiener. medic. Woch., 1893, nr 34; SCHMIEDEN, Centralbl. f. klin. Med., 1891, nr 30, p. 569; NICHSTÄDT, *Ueber den klin. Werth des Diuretins*, 1891; ASKANAZY, Deutsches Arch. f. klin. Mediz. Bd. 56, Heft 3-4; LÖBISCH, *Die Neueren Arzneimittel*, 4. Auflg., p. 37). Et cela, à plus forte raison que l'usage de la théobromine seule, en nature, n'a jamais donné lieu à ces phénomènes; tout ce que l'on a pu lui reprocher se borne à des maux de tête, un peu d'excitation, et de malaise parfois. En général, elle est bien supportée, même à haute dose (7 gr. par jour). (HUCHARD, Bull. génér. de Thérapie; LEWIN, *Die Nebenwirk. der Arzneimittel*, p. 569).

On l'a si bien reconnu qu'on a préconisé, à la place de la diurétine, l'emploi d'un sel double avec le benzoate de sodium, afin d'éviter les effets secondaires du salicylate.

Mais cette dernière combinaison n'a pas eu beaucoup de succès. On ne voit pas trop l'avantage que peut présenter le benzoate de sodium; il est aussi déplacé ici le salicylate; est-il moins nuisible? Cette question est encore fort controversée. Si l'on est unanime à reconnaître les défauts du salicylate, à tel point que l'on s'évertue depuis longtemps à lui trouver un succédané, on est bien loin d'être d'accord sur la toxicité du benzoate. Les uns prétendent que, même à forte dose, il ne présente aucun danger (GRAHAM BROWN, SENATOR), d'autres, au contraire, ont observé avec des doses beaucoup moindres des phénomènes d'intoxication (SCHREIBER). D'après SCHULTE, une dose de deux grammes de benzoate de sodium par kilogramme est toujours toxique pour les animaux à sang chaud, qui semblent être beaucoup plus sensibles que l'homme à l'action de ce sel. On observe chez eux des vomissements, des phénomènes d'excitation centrale, tels que tremblements, mouvements désordonnés des membres, surtout des membres postérieurs, convulsions, auxquelles succède une phase de paralysie générale. La fréquence de la respiration et des pulsations cardiaques s'accélère au début; plus tard, elle se ralentit et la mort survient par paralysie respiratoire. Comme pour le salicylate de sodium, le bulbe rachidien semble particulièrement atteint.

Il est bien établi que le benzoate est beaucoup moins dangereux que le salicylate de sodium; mais en faisant abstraction de l'élément toxique, nous sommes obligé de reconnaître que le premier de ces sels présente beaucoup de défauts propres au second; ainsi il est *tout aussi*

irritant pour les voies digestives, car on a souvent observé, à la suite de son ingestion, des troubles du côté de l'estomac et de l'intestin, des nausées, des vomissements, des bourdonnements et des tintements d'oreille. Les vomissements peuvent même être sanguinolents; on a constaté également des maux de tête, des vertiges, de la diarrhée, des éruptions cutanées de diverse nature, et de la strangurie (MEISSNER et LEWIN, loc. cit., p. 504).

Enfin, ce médicament, moins encore que le salicylate, *ne présente aucune, mais absolument aucune* indication dans le cas où l'on aura à se servir de la théobromine.

Son action diurétique, que l'on a admise dans certaines affections fébriles, comme la fièvre typhoïde (ROBIN), peut être considérée comme nulle; chez l'homme sain, dans les affections cardiaques, *jamais* il n'a produit de diurèse.

Comme la toxicité du benzoate est très mal déterminée, j'ai fait quelques expériences sur la grenouille, afin de pouvoir les comparer avec celle du salicylate de sodium.

On verra que ce sel est loin d'être aussi inoffensif qu'on ne le croit, et que sa toxicité ne paraît beaucoup plus faible, que parce que son action est plus lente et plus insidieuse.

1er Essai. Grenouille mâle de 35 gr. A 3 h. 12', injection hypodermique de 0,05 gr. d'acide benzoïque pur dissout dans la quantité nécessaire d'une solution de bicarbonate de sodium.

Immédiatement après l'injection, il se produit une certaine agitation; l'animal saute dans tous les sens; à 3 h. 25', il s'ajoute à ce symptôme un peu de maladresse dans les mouvements. A 3 h. 33', l'animal se laisse renverser sur le dos, reste quelques instants dans cette position; puis se relève prestement quand on l'excite. Le sens de l'équilibre paraît quelque peu émoussé.

A 3 h. 40', la grenouille reste sans mouvement, comme plongée dans une sorte de somnolence. La respiration et le cœur ne présentent rien d'anormal.

A 3 h. 44' la respiration perd peu à peu de son amplitude; les mouvements spontanés sont rares et faibles.

A 3 h. 48', la grenouille se laisse renverser très facilement sur le dos et se relève avec beaucoup moins d'agilité. Il y a une légère incoordination des mouvements.

3 h. 50', les divers symptômes se prononcent davantage; l'animal ne se relève plus de la position dorsale qu'avec grande difficulté.

4 h. 10', les fonctions cérébrales s'affaiblissent de plus; le sens de l'équilibre est presque entièrement perdu. La grenouille, une fois sur le dos, ne se relève qu'après de nombreux essais maladroits et infructueux; les mouvements spontanés sont rares.

4 h. 55', l'incoordination augmente encore; la respiration est faible; les réflexes sont moins bons; le cœur est toujours normal.

4 h. 55', l'état général empire; la grenouille ne sait plus se relever de la position dorsale; elle montre une grande apathie; les mouvements sont rares et accompagnés

d'un tremblement intentionnel très intense, surtout dans les membres postérieurs.

5 h. 7', les réflexes deviennent de plus en plus faibles; le tremblement augmente, la respiration est mauvaise, lente, irrégulière.

5 h. 15', l'incoordination des mouvements est complète; quand on l'excite, la grenouille pivote sur elle-même, sans pouvoir avancer. La respiration est presque nulle.

5 h. 44', la circulation s'affaiblit.

5 h. 53', il n'y a plus de mouvements respiratoires.

5 h. 58', la respiration réapparaît à de longs intervalles.

Le lendemain, à 9 heures du matin, la grenouille se trouve dans la même situation. Elle ne fait plus aucun mouvement; la respiration est pour ainsi dire nulle; le cœur bat encore lentement; la circulation est faible.

10 heures, la grenouille paraît morte; seul le cœur bat encore de temps à autre.

11 heures, exitus.

2e Essai. Grenouille mâle de 38 gr. A 3 h. 15', injection, dans le sac lymphatique, de 0,1 gr. d'acide benzoïque, dissout comme dans le 1er essai.

3 h. 19', la grenouille se laisse renverser sur le dos; la respiration est faible et irrégulière; par moments seulement elle paraît normale. Il y a de l'agitation assez intense.

3 h. 25', l'animal reste sur le dos, sans faire d'essais pour se relever. L'agitation diminue et tend à disparaître.

3 h. 30', les réflexes sont bons, la respiration est entrecoupée de pauses. La grenouille se trouve dans l'impossibilité complète de se relever de la position dorsale; il y a une forte incoordination des mouvements.

3 h. 35', les pauses respiratoires deviennent plus fréquentes.

3 h. 42', la respiration devient tout-à-fait mauvaise; l'incoordination s'accentue.

3 h. 50', les réflexes sont fort affaiblis; la respiration est faible et rare; apathie; il n'y a plus de mouvements spontanés.

3 h. 55', la circulation est également ralentie; la respiration est presque nulle.

4 h. 20', la grenouille fait de nouveau quelques mouvements spontanés; la respiration réapparaît de temps à autre; les mouvements sont difficiles, incoordonnés; il y a un tremblement intentionnel très intense.

4 h. 35', la circulation faiblit de plus en plus.

4 h. 45', les symptômes semblent s'améliorer quelque peu; la circulation est plus vive; la respiration est plus régulière, mais toujours faible.

5 h. 20', l'état empire de nouveau; la circulation devient décidément mauvaise; les réflexes sont presque nuls; la respiration est rare et faible; les mouvements spontanés ont disparu.

5 h. 30', il n'y a plus de réflexes; le bout périphérique des nerfs n'est plus excitable; le muscle l'est encore.

5 h. 42, mêmes symptômes; respiration nulle.

5 h. 58', la respiration revient quelques fois.

6 h. 10', mort.

3e Essai. Grenouille mâle de 40 gr. A 3 h. 17', injection de 0,2 gr. d'acide benzoïque, dans les mêmes conditions que plus haut.

3 h. 20', la grenouille est agitée et fait de nombreux sauts désordonnés.

3 h. 25', elle se laisse renverser sur le dos et reste dans cette position, sans

faire le moindre essai pour se relever; la respiration est faible et irrégulière.

3 h. 30', la grenouille conserve toujours la position dorsale; il n'y a plus de respiration; les réflexes sont mauvais; quand on excite l'animal, il se produit quelques mouvements respiratoires et quelques mouvements des membres, mais il lui est impossible de se relever.

3 h. 35', la respiration réapparaît spontanément, de temps en temps; la circulation est encore bonne; les mouvements spontanés ont absolument disparu.

3 h. 42', disparition des réflexes; respiration presque nulle.

3 h. 49', la circulation devient de plus en plus mauvaise; il n'y a plus de respiration.

4 h. 9', la circulation est très lente.

4 h. 12', le bout périphérique des nerfs moteurs n'est plus excitable; le muscle l'est encore.

4 h. 25', même état.

4 h. 56', la circulation est excessivement faible.

5 h. 25', mort.

Nous pouvons conclure de ces expériences que, chez la grenouille, le benzoate de sodium n'est pas beaucoup moins toxique que le salicylate; il agit plus lentement.

La respiration est une des premières fonctions importantes atteintes, ce qui indique une intoxication précoce du bulbe rachidien; le cerveau lui-même est assez rapidemment lésé, ce dont on peut juger par l'apathie qui suit les premiers moments d'excitation générale, par la perte du sens de l'équilibre et par la disparition des mouvements spontanés. La moelle n'est sérieusement atteinte que plus tard; alors que les mouvements spontanés existent encore, il se produit avec les doses toxiques faibles et moyennes, le phénomène intéressant du tremblement intentionnel; ce n'est que vers la fin qu'il se montre de la paralysie médullaire. Enfin, à forte dose, le benzoate semble avoir sur les plaques nerveuses motrices des muscles une action ressemblant à celle du curare.

Quant au cœur, il reste indemne, à faible dose; à plus forte dose, il est assez rapidemment entrepris. Les deux essais suivants, faits sur le cœur isolé de la grenouille, en témoignent indubitablement :

1er Essai.

Charge optimum	Surcharge	Volume de 10 pulsations	Fréquence	Travail
19 centimètres	0 centimètre	3,3 c.c.	12 puls. en 15"	0 centigr.
» »	10 centimètres	2,7 »	» » » »	27 »
» »	20 »	2,5 »	» » » »	50 »
» »	30 »	2,4 »	» » » »	72 »
» »	35 »	2,2 »	» » » »	77 »
» »	40 »	2,0 »	» » » »	80 »
» »	45 »	1,8 »	» » » »	81 »
» »	50 »	1,7 »	» » » »	85 »
» »	55 »	1,3 »	» » » »	71,5 »
» »	0 »	3,5 »	» » » »	0 »

Addition de 0,2 % d'acide benzoïque, dissout avec du bicarbonate de sodium, au liquide nutritif.

Charge optimum	Surcharge	Volume de 10 pulsations	Fréquence	Travail
19 centimètres	0 centimètre	3,3 c.c.	12 puls. en 15″	0 centigr.
» »	10 centimètres	2,7 »	» » » »	27 »
» »	20 »	2,6 »	» » » »	52 »
» »	30 »	2,4 »	» » » »	72 »
» »	40 »	2 »	» » » »	80 »
» »	50 »	1,65 »	» » » »	82,5 »
» »	55 »	1,3 »	» » » »	71,5 »
» »	0 »	3,4 »	» » » »	0 »

2e Essai.

Charge optimum	Surcharge	Volume expulsé par 10 pulsations	Fréquence	Travail
12 centimètres	0 centimètre	4 c.c.	9 puls. en 15″	0 centigr.
» »	10 centimètres	3,8 »	» » » »	38 »
» »	20 »	3,6 »	» » » »	72 »
» »	30 »	3,3 »	» » » »	99 »
» »	40 »	2,9 »	» » » »	116 »
» »	50 »	2,5 »	» » » »	125 »
» »	55 »	2,2 »	» » » »	121 »
» »	0 »	3,9 »	» » » »	0 »

Addition au liquide nutritif de 0,4 % d'acide benzoïque, dissout avec du bicarbonate de sodium.

12 centimètres	0 centimètre	3 c.c.	9 puls. en 15″	0 centigr.
» »	10 centimètres	2,9 »	» » » »	29 »
» »	20 »	2,7 »	» » » »	54 »
» »	30 »	2'6 »	» » » »	78 »
» »	40 »	2,2 »	» » » »	88 »
» »	50 »	1,75 »	» » » »	87,5 »
» »	55 »	1,3 »	» » » »	71,5 »
» »	45 »	1,8 »	» » » »	81 »
» »	0 »	2,7 »	» » » »	0 »
8 »	0 »	3,8 »	» » » »	0 »

Avec du liquide nutritif *pur*.

12 centimètres	0 centimètre	3,1 c.c.	» » » »	0 »
» »	0 »	3,3 »	» » » »	0 »
» »	0 »	3,5 »	» » » »	0 »
» »	0 »	3,7 »	» » » »	0 »

Les faibles doses de benzoate de sodium sont donc sans influence sensible sur le cœur; à dose double de celle du salicylate, par contre, cette substance a pour effet immédiat de réduire considérablement le volume de chaque pulsation, par conséquent aussi le travail du cœur; celui-ci, normalement de 125 grammes-centimètres au maximum, tombe par l'action du benzoate à 88 grammes-centimètres soit d'environ 30 %. La force absolue est réduite également; alors que le maximum normal du travail était atteint à une hauteur de 50 centimètres de surcharge, ce même maximum se trouve avec le benzoate à 40 centimètres, soit une baisse 20 % pour la force absolue. Il est bien certain que le benzoate de sodium est moins toxique chez les animaux à sang chaud, surtout chez les herbivores;

en effet l'organisme neutralise assez rapidement son pouvoir nocif en le transformant en acide hippurique. Mais il n'en est pas moins vrai, que ce sel n'est pas du tout aussi anodin qu'on ne l'admet généralement, et si l'on ne peut parler d'intoxication aux faibles doses auxquelles on l'administre avec la théobromine, il n'en est pas moins vrai que son influence est loin d'être favorable.

Etant par conséquent persuadé de *l'inopportunité, de la nocuité même du benzoate et de salicylate de sodium, de ce dernier produit surtout,* dans les préparations de diurétines, je m'appliquai à composer d'autres produits similaires, en alliant à la théobromine sodée des sels de sodium dépourvus de *toute toxicité*, et présentant en l'occurence, autant que possible, une *utilité* réelle.

Je me servis dans cet ordre d'idées, successivement du citrate, du tartrate, du succinate, du malate, de l'acétate et du nitrate de sodium.

La préparation de ces composés, de ces soit-disant sels doubles, demande de minutieuses précautions; il faut opérer avec des substances absolument pures, et surtout se mettre à l'abri de l'acide carbonique de l'air. Si l'on ne se soumet pas à ces conditions, on n'obtient que des produits imparfaits, s'altérant rapidément et de valeur inférieure au point de vue pharmacologique. Il en est de même, du reste, de la préparation de la diurétine avec le salicylate et le benzoate de sodium.

Je m'y pris de la façon suivante : la théobromine pure et finement pulvérisée fut d'abord dissoute dans la quantité rigoureusement nécessaire d'une solution normale de soude caustique à l'alcool, absolument dépourvue d'alumine et autant que possible de carbonates. A cette solution bien claire, fut ajouté en quantité équimoléculaire un des sels de sodium que j'ai cités, dissout lui-même dans le volume d'eau nécessaire; le mélange rapidement filtré, fut évaporé à siccité dans une capsule de nickel, à l'abri de l'acide carbonique de l'air, ou mieux encore dans le vide. Le produit obtenu fut pulvérisé finement, dans un mortier clos, pour éviter les atteintes de l'humidité et de l'acide carbonique. Enfin, il est bon de priver d'air le plus possible la poudre ainsi préparée, en la soumettant un certain temps à l'action du vide. Inutile de dire que ce produit doit être conservé dans des récipients hermétiquement bouchés.

J'obtins de cette manière des préparations absolument analogues à la diurétine, facilement solubles dans l'eau et d'une conservation parfaite; elles sont douées des mêmes propriétés physiques et chimiques et se présentent sous forme de poudre blanche, hygroscopique, se dissolvant d'une façon limpide dans l'eau, avec une réaction fortement alcaline. Les acides faibles et l'acide carbonique de l'air troublent leur solution et

précipitent plus ou moins lentement la théobromine. Avec l'acide chlorhydrique cette précipitation est assez lente, de sorte que l'acidité normale de l'estomac ne peut guère entraver la résorption de la théobromine sous cette forme. Le goût de ces « sels doubles » est amer, comme toutes les préparations contenant cette base organique.

J'abandonnai bientôt l'emploi de plusieurs des sels de sodium dont j'ai parlé, pour ne conserver dans la composition de mes sels doubles, que l'acétate et le nitrate de sodium. En effet ces deux sels ont un poids moléculaire très restreint, de sorte que dans les produits que j'obtins avec eux, la proportion de théobromine est supérieure à celle de toutes les autres préparations; de plus, ils ont une action diurétique bien établie.

Enfin l'acétate de sodium est entièrement brûlé dans l'organisme et s'élimine sous forme de carbonate alcalin. Ce dernier facteur doit même faire préférer l'emploi de l'acétate à celui du nitrate de sodium.

A la suite de ces essais, il s'imposait de faire une étude comparée des propriétés chimiques et pharmacologiques des nouvelles préparations et de la diurétine de GRAM.

Chimiquement, ces produits ne sont, en solution, pas plus que la diurétine, des sels doubles; mais les solutions du produit à l'acétate, que nous nommerons dès maintenant l'*agurine*, cristallisent nettement, en une forme bien déterminée, absolument différente de celle de l'acétate de sodium, et distincte de celle de la théobromine sodée, dont elle se raproche pourtant. Ce sont des rosettes serrées, composées de fines aiguilles longues, très régulières; au début de la cristallisation, ces aiguilles sont isolées; peu à peu, elles se réunissent pour former des rosettes qui peuvent atteindre des dimensions assez considérables, pour pouvoir être nettement distinguées à l'œil nu. Ces cristaux ont une composition constante, bien déterminée; ce sont donc bien de sels doubles. Si le produit, en cristallisant, ne donnait pas un sel double, si les deux composantes restaient séparées, on devrait logiquement s'attendre à voir cristalliser d'abord l'acétate de sodium, qui est le moins soluble des deux sels qui entrent dans la combinaison; il n'est soluble, en effet, qu'à 33 °/₀, tandis que la théobromine sodée l'est pour ainsi dire ad infinitum (MALY). Le produit de la cristallisation devrait donc être hétérogène; on devrait pouvoir y distinguer séparément des couches d'acétate et des couches de théobromine sodée, mais il n'en est absolument rien. D'ailleurs, l'analyse chimique le prouve à toute évidence.

Le meilleur procédé pour analyser ces produits est le dosage de l'azote par la méthode de KJELDAHL. Il suffit de brûler la substance avec de

l'acide sulfurique fumant, puis, après alcalinisation, de distiller l'ammoniaque qui se dégage; celui-ci est reçu dans une quantité déterminée d'acide sulfurique titré.

Les résultats, obtenus de cette façon, sont bien plus exacts que ceux auxquels on arrive par la méthode de VULPUIS, qui précipite les solutions de théobromine par l'acide chlorhydrique en présence de chlorure d'ammonium. La précipitation de la théobromine n'est jamais parfaite; une partie notable reste en solution, de sorte que l'on doit évaluer cette dernière approximativement et l'ajouter à la quantité trouvée par pesée de la théobromine précipitée.

L' « *agurine* » a la composition théorique suivante :

Théobromine sodée, poids moléculaire :	202
Acétat de sodium sec	82
Total	284

Sur ces 284 parties, il y a 180 parties de théobromine, puisque le poids moléculaire de cette base est 180; l'agurine devrait donc théoriquement contenir environ *63,3 %* de théobromine, soit *19,72 %* d'azote.

Or l'analyse des cristaux d'agurine nous donne une proportion de 15,8 % d'azote. Comme il est probable que l'agurine cristallise avec une ou plusieurs molécules d'eau, si nous admettons 3 molécules d'eau, il nous faut 16,58 % d'azote. L'analyse nous démontre donc que les cristaux d'agurine contiennent 3 molécules d'eau, de même que l'acétate de sodium.

Si l'on évapore les solutions d'agurine à une température de 50°, on obtient également un produit renfermant 3 molécules d'eau de cristallisation; mais ce produit est de mauvaise conservation, il attire rapidement l'acide carbonique de l'air et a une forte tendance à se liquéfier en absorbant de la vapeur d'eau. Si l'on soumet ce produit un temps plus ou moins long à une température de 100°, il perd régulièrement deux molécules d'eau; l'agurine ainsi obtenue est très stable et se laisse parfaitement conserver; sa composition est de plus très constante. C'est une poudre blanche, qui au contact de l'eau se combine avec elle en dégageant une grande quantité de chaleur, reconstituant ainsi le sel à 3 molécules d'eau. L'analyse de l'agurine à une molécule d'eau a constamment donné une proposition de 18,4 à 18,6 % d'azote, ce qui correspond fort bien à la quantité théorique qui est de 18,54 %. C'est cette préparation que j'emploierai toujours dans les divers essais qui suivront; elle renferme donc *59,7 % de théobromine*, soit *10 % de plus* que la diurétine de GRAM.

Le sel double de théobromine sodée et de nitrate de soude ne contient pas d'eau de cristallisation ; à l'analyse il a fourni 61,9 % de théobromine, au lieu de 62,7 % qu'il aurait fallu avoir théoriquement. Cette différence tombe dans les limites d'erreurs qui peuvent se présenter à l'analyse.

Il n'y a donc pas de doute que l'agurine ne soit à l'état sec ou cristallin un véritable sel double; en solution, comme je l'ai déjà dit, et ainsi que l'on s'y pouvait attendre, il n'en est plus ainsi; il y a dissociation complète. L'étude des points de congélation de ces solutions nous le démontre clairement, comme pour la diurétine. Le point de congélation d'une solution au 1/10 normale d'acétate de sodium se trouve à — 0°,37; celui d'une solution correspondant de la théobromine sodée à — 0°,24; enfin celui d'une solution mixte équivalente d'acétate de sodium et de théobromine sodée à — 0°,59. Théoriquement il aurait fallu — 0°,61, il n'y a donc pas de différence notable; nous avons bien à faire à un mélange. J'obtins avec le nitrate de sodium des chiffres analogues que je crois inutile de reproduire.

J'arrive maintenant au point le plus intéressant, c'est-à-dire à la démonstration de l'utilité de l'adjonction d'un sel à la théobromine sodée, dans le but d'émousser la causticité de sa solution.

Pour résoudre ce problème, nous avons eu recours aux données de la physicochimie. Afin de nous faire une idée du degré de causticité d'une substance, il nous suffit, lorsque sa nature le permet, de la mettre en contact avec une autre sur laquelle elle puisse réagir en vertu de sa causticité; en mesurant la rapidité de la réaction, nous pouvons quantativement, mathématiquement apprécier le degré de causticité en question.

Dans le cas qui nous occupe, puisque nous avions à faire à un produit de nature basique, la réaction la plus convenable que nous pussions employer pour atteindre notre but, était certainement la saponification d'un éther, et nous avons choisi la saponification de l'éther acétique, comme la plus simple et la plus connue. D'après la loi des réactions bimoléculaires, lorsque les substances qui entrent en réaction sont en présence en quantités équivalentes, la constante K de décomposition se déduit de la formule suivante : $K = \frac{x}{(a - x)\,a\,t}$ où a représente le nombre de molécules de chaque substance en présence et x la quantité décomposée en un temps t. (Voir : DRESER, *Pharmakologisches über Aspirin.* Arch. f. die ges. Physiologie, Bd. 76, p. 306.)

Un premier fait à établir était la différence de causticité entre une

solution de théobromine sodée et une solution équimoléculaire de soude caustique. Il était évident que la première solution devait être beaucoup moins active; l'élévation du point de congélation, par conséquent la certitude que nous nous trouvions en présence d'une combinaison faiblement dissociée, devait déjà nous le faire prévoir. Mais il nous était nécessaire d'établir le fait en chiffres, de façon à nous procurer une base de comparaison par les essais consécutifs.

La première épreuve de saponification que j'entrepris fut donc celle de l'éther acétique par la soude caustique : Je choisis une concentration correspondant à peu près à celle qui est d'usage courant dans l'administration de la diurétine, c'est-à-dire d'après la formule de v. Schröder : 1/40 à 1/30, puisqu'il prescrit :

K.	Diurétine	5 à 7	grammes
	Aq. dest.	90	»
	Aq. Menth.	100	»
	Sirupi simplicis	10	»

Pour la simplification des calculs, j'employai la concentration 1/50.

Je pris comme base des essais qui vont suivre, la préparation où la théobromine sodée est alliée à l'acétate de soude, l'*agurine* absolument sèche, c'est-à-dire dépourvue d'eau de cristallisation. Le poids moléculaire de l'agurine est, ainsi que nous l'avons vu, 284 gr.; comme je voulais opérer à la concentration de 1/50, la quantité de soude caustique, équivalente à un gramme de cette préparation, se trouvait donc être : $\frac{40}{280} = 0,1408$ gr., puisque dans 284 gr. du produit il y a 40 gr. de NaOH combinés à la théobromine.

Cette quantité de 0,1408 gr. de NaOH correspond exactement à 17,6056 c.c. d'une solution au 1/5 normale de soude caustique.

Pour la facilité des titrations, je me servis du double de cette quantité, afin d'arriver à un volume global de 100 c.c. La quantité équivalente de l'éther acétique à saponifier était par conséquent de $0,309859 \times 2 = 0,6197$ gr. (Le poids moléculaire de l'éther acétique étant de 88.)

Je pesai donc dans un ballon jaugé de 100 c.c. exactement 0,6197 gr. d'éther acétique; j'ajoutai 60 c.c. d'eau distillée, fermai hermétiquement le ballon, agitai jusqu'à dissolution complète, puis ajoutai rapidement $17,6056 \times 2 = 35,2112$ c.c. de soude caustique au 1/5 normale, et complétai aussi vite que possible le volume à 100 c.c. avec de l'eau distillée. Toutes ces opérations doivent se faire avec la plus grande

célérité. Le mélange fut ainsi obtenu exactement à 11 h. 18′; la température de la réaction était de 15°.

Six minutes après que le mélange eut été fait, j'en prélevai rapidement 10 c.c. et titrai la soude caustique, qui pouvait encore s'y trouver, à l'aide d'une solution au 1/5 normale d'acide sulfurique. De cette façon, je pouvais connaître la quantité de soude qui avait à ce moment déjà été employée à la saponification, par suite la quantité d'éther saponifié, et par conséquent la vitesse de la réaction.

Au début de la réaction, au moment théorique où la saponification n'avait pas encore commencé, les 10 c.c. cubes du mélange devaient naturellement correspondre à 3,521 c.c. d'acide sulfurique 1/5 normal. Or à 11 h. 24, c'est-à-dire après 6 minutes de réaction, les 10 c.c. cubes ne titraient plus que 1,05 c.c. d'acide sulfurique 1/5 normal; donc 3,521 — 1,05 = 2,471 c.c. de soude au 1/5 normale avaient été neutralisés par la saponification, par conséquent 24,71 c.c. sur le volume total du mélange, de sorte que 0,4351 gr. d'éther acétique avait été à ce moment décomposé.

La même opération réitérée toutes les 3 minutes, donna successivement les résultat suivants :

Temps	Titre, en SO_4H_2 1/5 normal, de 10 c.c. du mélange	Quantité totale d'éther acétique saponifié
11 h. 27′	0,85 c.c.	0,4701 gr.
11 h. 30′	0,70 c.c.	0,497 gr.
11 h. 33′	0,60 c.c.	0,5145 gr.
11 h. 36′	0,50 c.c.	0,532 gr.
11 h. 39′	0,45 c.c.	0,541 gr.
11 h. 42′	0,45 c.c.	0,541 gr.
11 h. 45′	0,40 c.c.	0,55 gr.
11 h. 48′	0,40 c.c.	0,55 gr.

La constante K, établie d'après la formule $\frac{x}{(a-x)\,a\,t}$ se calcule de la façon suivante, pour les 6 premières minutes, par exemple :

$a = 3,521$ c.c. ; $a - x = 1,05$ c.c. ; $x = 3,521 - 1,05 = 2,471$ c.c. ; $t = 6'$.

Donc, nous avons : $\frac{2,471}{1,05 \,.\, 3,521 \,.\, 6} = \mathbf{0,1113}$.

En faisant la même opération pour les périodes suivantes, nous trouvons pour K successivement les valeurs :

à 11 h. 24′ : 0,1113
à 11 h. 27′ : 0,09918
à 11 h. 30′ : 0,09538
à 11 h. 35′ : 0,09218
à 11 h. 36′ : 0,09530
à 11 h. 39′ : 0,09230
à 11 h. 45′ : 0,08207

On remarquera que la constante diminue progressivement depuis le commencement de la réaction, jusqu'à la fin de l'essai; ce fait est dû à l'action perturbatrice des produits de la réaction; ici, particulièrement, à la formation de l'acétate de sodium surtout et de l'alcool éthylique, dont la proportion augmente au fur et à mesure que la saponification avance. Il est donc clair que la réaction doit devenir de moins en moins énergique.

Si l'on veut avoir la constante K d'une réaction ayant un cours normal, c'est-à-dire à l'abri de l'influence retardatrice des produits de la réaction, il faut opérer à des concentrations excessivement faibles, beaucoup plus faibles que celles que nous avons employées.

Pour nous, au contraire, ces perturbations amenées par les produits de la réaction sont justement ce qu'il y a de plus intéressant : nous voyons, en effet, que les sels indifférents, ajoutés à un mélange en réaction, influent plus ou moins sur la marche de la réaction. Les molécules de ces sels s'interposent, comme autant d'obstacles, entre les molécules des substances réagissant l'une sur l'autre; si la concentration du mélange est forte, ces obstacles seront plus serrés, dirai-je, la perturbation plus forte; si la concentration est très faible, ces molécules laisseront entre elles plus de place, gêneront moins, et le cours de la réaction sera plus normal, plus régulier.

Mais deux autres facteurs entrent encore ici en considération. L'influence perturbatrice des produits de la réaction ou des sels indifférents, ajoutés au mélange en réaction, varie suivant la nature même de ces produits ou de ces sels. Si ce sont des sels d'acides forts, dissociant beaucoup, il est clair que leur action perturbatrice sera très faible — nulle peut-être; par contre, si ce sont des sels d'acides faibles, ne dissociant guère, l'obstacle qu'ils présenteront à la marche de la réaction sera d'autant plus marqué, que leur état de dissociation dans le mélange en question sera moindre. Enfin, la vitesse propre à la réaction aura également son influence : si les corps réagissent l'un sur l'autre avec une grande énergie, il est bien évident qu'ils surmonteront plus facilement l'action perturbatrice, et que par conséquent celle-ci se fera bien moins sentir que dans la réaction à vitesse initiale déjà faible par elle-même.

Nous verrons bientôt le parti à tirer de ce phénomène.

La théobromine sodée saponifie naturellement beaucoup plus lentement que la soude caustique. Les deux essais qui vont suivre en rendent parfaitement compte :

1er Essai. — Je fis une solution de 1,2676 gr. de théobromine dans 35,21 c.c. de soude caustique au 1/5 normale; j'ajoutai de l'eau distillée

et 0,6197 gr. d'éther acétique, et complétai le volume du mélange jusqu'à 100 c.c., le tout aussi prestement que possible. Le mélange fut fait à 10 h. 42'.

Voici les résultats :

Temps	Titre, en SO_4H_2 1/5 normal, de 10 c.c. du mélange	Quantité totale d'éther acétique saponifié	Constante K
10 h. 46'	3,3 c.c.	0,03889 gr.	0,004747
10 h. 50'	3,2 c.c.	0,0565 gr.	0,003561
10 h. 56'	3,2 c.c.	0,0565 gr.	—
11 h.	3,1 c.c.	0,0742 gr.	0,002143
11 h. 4'	3,1 c.c.	0,0742 gr.	—
11 h. 8'	3,0 c.c.	0,0917 gr.	0,001897
11 h. 12'	2,95 c.c.	0,1004 gr.	0,001832
11 h. 16'	2,95 c.c.	0,1004 gr.	—
11 h. 20'	2,95 c.c.	0,1004 gr.	0,001447

2e Essai. Dans un second essai, attendu que la réaction était si lente, je fis les titrations à de beaucoup plus longs intervalles, afin d'arriver à une évaluation plus précise de la constante.

Je préparai le même mélange, de la même façon, exactement à 10 h. 7'; la réaction eut le cours suivant :

Temps	Titre, en SO_4H_2 1/5 normal, de 10 c.c. du mélange	Quantité totale d'éther acétique saponifié	Constante K
10 h. 37'	2,95 c.c.	0,1004 gr.	0,001832
11 h. 7'	2,85 c.c.	0,1182 gr.	0,001116
11 h. 37'	2,75 c.c.	0,1360 gr.	0,0008856
12 h. 7'	2,70 c.c.	0,1445 gr.	0,0007203
15 h. 7'	1,95 c.c.	0,2732 gr.	0,0007471
18 h. 7'	1,45 c.c.	0,364 gr.	0,000843

3e Essai. Même mélange fait à 16 h. 15' :

16 h. 30'	3,1 c.c.	0,074 gr.	0,002570
16 h. 45'	2,95 c.c.	0,1004 gr.	0,001832
17 h.	2,9 c.c.	0,1093 gr.	0,001353
17 h. 15'	2,85 c.c.	0,1182 gr.	0,001116
17 h. 30'	2,80 c.c.	0,127 gr.	0,000977
17 h. 45'	2,75 c.c.	0,136 gr.	0,0008856
18 h.	2,70 c.c.	0,144 gr.	0,0008195

Ces chiffres parlent d'eux-mêmes; ils répondent parfaitement à l'élévation du point de congélation que nous avons observée avec la théobromine sodée. De plus ils nous démontrent encore beaucoup plus clairement que dans les essais de saponification avec la soude caustique seule, l'influence retardatrice de l'acétate de sodium sur la marche de la réaction. En effet, dans le 2e essai avec la théobromine sodée, nous voyons la constante K tomber de 0,001832 au début, à 0,0007203 et 0,0007471 vers la fin de l'expérience, soit d'environ *60* %; de même dans le 3me essai elle se réduit de 0,002570 à 0,0008195, soit de près de *70* %!

Ces perturbations que les sels, ou les autres produits des réactions,

exercent sur les réactions elles-mêmes, ont été observées surtout par Van 't Hoff et Cohen, dans leurs recherches physico-chimiques. En étudiant la saponification des éthers par les acalis caustiques, ou d'autres processus analogues, ils remarquèrent régulièrement cette chute constante et progressive de K. Voici, d'ailleurs, une expérience de Cohen, où ce phénomène est bien visible, quoiqu'il s'agisse en la circonstance du chlorure de sodium, comme agent perturbateur; on remarquera que, malgré la très faible concentration des solutions que l'auteur a employées et malgré la forte dissociation du chlorure de sodium, ce sel trouble cependant la marche de la réaction :

Décomposition du chlore-acétate de sodium par la soude caustique.

Temps	Constante K
13 minutes après le mélange	0,15
33 » » »	0,138
63 » » »	0,136
93 » » »	0,131
123 » » »	0,133
153 » » »	0,138

Cohen fait suivre cet essai de l'observation, que je traduis ainsi : « Il est clair que le cours de cette réaction n'est pas normal. Les valeurs de K, au début de la réaction, se rapportent à une solution aqueuse, tandis que celles qui furent déterminées pour les périodes ultérieures, sont altérées par l'influence du chlorure de sodium qui se forme pendant la réaction. »

J'ai tenu à reproduire ici cet essai, afin de bien démontrer la différence considérable qui existe dans l'énergie de l'influence perturbatrice, entre les sels d'acides forts, comme le chlorure de sodium, et les sels d'acides faibles comme l'acétate de sodium.

Si donc nous voulons enrayer la causticité d'un produit comme la théobromine sodée, diminuer par conséquent d'une façon notable la valeur de la constante K, avec laquelle il entre en réaction, c'est-à-dire de l'énergie avec laquelle il irrite les tissus qui sont en contact avec lui, nous aurons tout intérêt à lui adjoindre une quantité déterminée d'un sel d'acide faible, dissociant peu dans ses solutions, et naturellement non irritant lui-même.

La théobromine sodée, beaucoup moins caustique que la soude caustique, et dissociant fort peu dans ses solutions aqueuses, est pourtant encore trop irritante.

Toutefois sa causticité a une valeur si faible, qu'elle se rapproche beaucoup du point où elle deviendrait inoffensive pour les tissus. Si donc

nous parvenons à réduire, si peu que ce soit cette causticité, le produit devient utilisable. En lui adjoignant le salicylate de sodium, comme dans la diurétine, nous obtenons déjà une légère amélioration. Elle n'est pourtant pas très sensible, et loin d'être suffisante; car le salicylate est un sel d'acide fort, dissociant considérablement, ne troublant donc qu'assez faiblement le cours de la réaction; de plus le salicylate est déjà irritant par lui-même; c'est donc là une cambinaison plutôt malheureuse. Par contre avec l'acétate de sodium, qui est parfaitement inoffensif, qui réduit, comme nous l'avons vu considérablement l'énergie de la réaction, nous avons toute certitude d'atténuer la causticité de la théobromine sodée à tel point qu'elle devient supportable pour la muqueuse des voies digestives, qu'elle ne peut plus léser.

Afin de démontrer la véracité de l'hypothèse que je viens d'émettre, j'ai entrepris une série d'essais de saponification de l'éther acétique avec la théobromine sodée, en ajoutant au préalable au mélange en réaction une quantité d'acétate et de salicylate de sodium, équimoléculaire à celle de la théobromine sodée.

Ces essais étaient peut-être superflus; la marche de la réaction de la théobromine sodée sur l'éther acétique, que nous avons étudiée plus haut, a démontré suffisamment l'action perturbatrice de l'acétate de sodium.

Cependant on aurait pu objecter que l'acétate, ajouté au début de la réaction, n'a pas le même effet que celui qui naît au fur et à mesure de la réaction; que l'alcool éthylique qui se produit aussi, a également une bonne part dans cette influence retardatrice. Les essais suivants lèveront tous les doutes à cet égard.

1° *Essai de saponification de l'éther acétique par la théobromine sodée, alliée à l'acétate de sodium.*

A) 1,2676 gr. de théobromine furent dissous dans 35,21 c.c. de soude caustique au 1/5 normale; j'ajoutai à cette solution celle de 0,9576 gr. d'acétate de sodium cristallisé ($3H_2O$) dans 50 c.c. d'eau distillée; enfin, le tout fut additionné de 0,6197 gr. d'éther acétique et le volume porté à 100 c.c., avec les mêmes précautions que dans les essais antérieurs.

Le mélange fut opéré exactement à 10 h. 28'; la température était de 15°; le cours de la réaction fut le suivant :

Temps	Titre, en SO_4H_2 au 1/5 norm., de 10 c.c. du mélange	Quantité totale d'éther saponifié	Constante K
10 h. 58'	3,15 c.c.	0,06525 gr.	0,001115
11 h. 28'	2,95 c.c.	0,1004 gr.	0,0009162
11 h. 58'	2,85 c.c.	0,1180 gr.	0,000743
2 h. 58'	2,475 c.c.	0,1842 gr.	0,0004446
5 h. 28'	2,20 c.c.	8,2326 gr.	0,000406

B) Même mélange opéré à 10 h. 1'.

Temps	Titre, en SO_4H_2 au 1/5 norm., de 10 c.c. du mélange	Quantité totale d'éther saponifié	Constante K
10 h. 16'	3,3 c.c.	0,03893 gr.	0,001268
10 h. 31'	3,175 c.c.	0,061 gr.	0,001032
10 h. 46'	3,05 c.c.	0,083 gr.	0,0009746
11 h. 1'	2,975 c.c.	0,096 gr.	0,0008687
11 h. 16'	2,925 c.c.	0,1054 gr.	0,0007716
11 h. 31'	2,9 c.c.	0,1093 gr.	0,0006757
11 h. 46'	2,85 c.c	0,1181 gr.	0,0006368

2° *Essai de saponification de l'éther acétique par la théobromine sodée, alliée au salicylate de sodium* (diurétine).

Même mélange que précédemment, avec 1,127 gr. de salicylate au lieu d'acétate de sodium. Le mélange fut fait à la température de 15° et à 3 h. 51'.

Temps	Titre, en SO_4H_2 au 1/5 norm., de 10 c.c. du mélange	Quantité totale d'éther saponifié	Constante K
3 h. 46'	3,2 c.c.	0,0565 gr.	0,001899
4 h. 1'	3,05 c.c.	0,083 gr.	0,001462
4 h. 16'	2,95 c.c.	0,1006 gr.	0,001222
4 h. 31'	2,85 c.c.	0,1182 gr.	0,001114
4 h. 46'	2,80 c.c.	0,127 gr.	0,0009751
5 h. 1'	2,75 c.c.	0,1366 gr.	0,0008847
5 h. 16'	2,70 c.c.	0,1440 gr.	0,0008225
5 h. 31'	2,65 c.c.	0,1531 gr.	0,0007779

En comparant les résultats obtenus, nous pouvons les réunir dans les deux tableaux suivants :

1° Quantités d'éther acétique saponifié :

Temps	NaOH	Théobromine sodée	Diurétine de Gram	Agurine	
Après 15'	(14') 0,5145 gr.	0,074 gr.	0,0565 gr.	0,03893	
» 30'	(27') 0.55 gr.	0,1004 gr.	0,083 gr.	0,061 0,06525	en moyenne : 0,06312
» 45'		0,1093 gr.	0,1086 gr.	0,083	
» 60'		0,1182 gr.	0,1182 gr.	0,096 0,1004	en moyenne : 0,0982
» 75'		0,127 gr.	0,127 gr.	0,1054	
» 90'		0,136 gr.	0,1366 gr.	0,1180 0,1093	en moyenne : 0,1136
» 105'		0,144 gr.	0,1440 gr.	0,1181	
» 120'		0,1445 gr.	0,1531 gr.		

2° Valeurs de la constante K :

Temps	NaOH	Théobromine sodée	Diurétine de Gram	Agurine	
Après 15'	(14') 0,09218	0,002570	0,001899	0,001268	
» 30'	(27') 0,08207	0,001832	0,001462	0,001032 0,00115	en moyenne : 0,001091
» 45'		0,001353	0,001222	0,0009746	
» 60'		0,00116	0,001114	0,0009162 0,0008687	en moyenne : 0,0008904
» 75'		0,000977	0,0009751	0,0007726	
» 90'		0,0008856	0,0008847	0,000743 0,0006757	en moyenne : 0,0007093
» 105'		0,0008195	0,0008225	0,0006368	
» 120'		0,0007203	0,0007779		

La comparaison de ces chiffres nous amènent aux conclusions que voici :

1° L'addition à la théobromine sodée, d'une quantité équimoléculaire d'acétate de soude, réduit d'environ 50 % l'énergie initiale avec laquelle cette préparation saponifie l'éther acétique; nous pouvons donc dire qu'elle diminue de 50 % environ son pouvoir caustique ou irritant.

Comme nous avons observé dans la saponification avec la théobromine sodée seule, une réduction de la constante K, de 60 à 70 % dans le cours de la réaction, nous voyons que l'acétate de sodium entre pour plus des 2/3 dans cet effet, l'alcool éthylique pour moins d'un tiers. L'acétate de sodium est donc de loin le facteur le plus important dans le ralentissement de la réaction.

2° L'addition du salicylate de sodium est beaucoup moins efficace, ainsi que l'on pouvait s'y attendre; elle ne produit qu'une réduction de 25 % de la constante K.

3° Dans le cours de la réaction avec les mélanges de théobromine sodée et d'acétate, respectivement de salicylate, la constante K, quoique réduite au début, dans les proportions que nous venons de voir, continue néanmoins à diminuer, comme dans la saponification avec la théobromine sodée seule, toutefois d'une façon moins prononcée; cette diminution progressive est due à la formation croissante d'alcool éthylique et à l'augmentation croissante aussi de la concentration de l'acétate de sodium.

Le fait intéressant, important que je voulais démontrer, c'est la réduction considérable que subit l'énergie initiale de la réaction sous l'influence de l'acétate de sodium, c'est l'émoussement de la causticité de la théobromine sodée, c'est enfin la raison d'être des sels doubles de théobromine, et l'évidence de la supériorité de l'agurine sur la diurétine de GRAM *à ce point de vue.*

Un graphique, qui se trouve à la fin de cette publication (planche, tracé I), rend compte, mieux que les chiffres, des variations de la valeur de la constante K, dans les trois réactions qui nous ont occupé ici, soit 1° dans la saponification de l'éther acétique par la théobromine sodée seule, 2° par la théobromine sodée en présence du salicylate de sodium, 3° enfin par la théobromine sodée en présence de l'acétate de sodium.

Les trois tracés n'ont pas besoin de commentaires; ils forment une illustration claire et précise des faits que je viens de relater.

J'ai cru inutile de reproduire les essais que j'ai entrepris dans le même ordre d'idées avec la théobromine sodée alliée au nitrate de sodium. Comme nous avions à faire ici à un sel d'acide encore plus puissant que l'acide salicylique, dissociant par conséquent à un plus fort degré encore,

dans ses solutions salines, il était hors de doute que le nitrate de sodium retarderait aussi faiblement que le salicylate la marche de la réaction, et aurait par suite aussi peu d'efficacité que ce dernier sel pour atténuer la causticité de la théobromine sodée. Et, en effet, la valeur de la constante K, que j'ai observée dans la saponification de l'éther acétique par la théobromine sodée alliée au nitrate de sodium, se rapproche beaucoup de celle trouvée pour la réaction avec la mélange au salicylate.

Pour cette raison, comme pour la raison pharmacologique que j'ai déjà exposée plus haut, je donne la préférence à l'agurine, sur le sel double du nitrate de sodium.

Maintenant que nous avons reconnu la nature chimique des sels doubles de la théobromine, passons à l'étude pharmacologique comparée de ces produits.

En premier lieu, il s'agissait d'établir si l'adjonction de l'acétate ou du nitrate de sodium n'altérait pas les propriétés physiologiques de la théobromine.

A cet effet, il fut entrepris plusieurs essais sur la grenouille. Les détails de deux expériences suffiront à montrer que l'action typique de la base organique sur les éléments musculaires est restée intacte, de même que l'action paralysante consécutive.

1er Essai avec la préparation au nitrate de sodium.

Grenouille de 35 gr. A 10 h. 14′, injection souscutanée de 0,01 gr. de théobromine, sous la forme susdite.

10 h. 20′, raideur des membres ; abstraction faite de ce phénomène, les mouvements s'effectuent encore bien. La grenouille se relève assez prestement quand on la renverse sur le dos ; la respiration est pour ainsi dire normale.

10 h. 24′, la raideur s'accentue ; les mouvements sont gênés.

10 h. 30′, les mouvements spontanés deviennent rares ; la respiration est faible ; elle tend à disparaître.

10 h. 45′ la rigidité devient intense dans toute la musculature ; la respiration a définitivement cessé. Le cœur bat fortement encore.

11 h. 15′, les mouvements sont de plus en plus entravés ; mise sur le dos, la grenouille ne parvient, qu'après de nombreux efforts infructueux, à se relever.

Cet état persiste toute la journée ; le lendemain, la grenouille est trouvée morte.

2e Essai avec la diurétine.

Grenouille de 38 gr. A 10 h. 12′, injection hypodermique d'une quantité de diurétine correspondant à 0,01 gr. de théobromine.

10 h. 15′, raideur des muscles ; en dehors de ce fait, les mouvements sont encore bons. La respiration est affaiblie.

10 h. 20′, la raideur augmente ; la grenouille ne parvient plus que difficilement à se relever de la position dorsale ; la respiration est presque nulle.

10 h. 24′, rigidité complète des membres ; mouvements spontanés rares et faibles,

10 h. 30', il n'y a plus de mouvements du tout ; la respiration a disparu.

11 h. 15', même état ; il perdure jusqu'au lendemain, où la mort survient dans une phase de paralysie générale, comme pour la première grenouille.

Quelques essais faits avec l'agurine conduisent exactement au même résultat. Je crois inutile d'en reproduire ici les détails.

Il semble donc bien évident que l'adjonction de nitrate ou d'acétate de sodium ne modifie en rien l'action physiologique propre à la théobromine ; les expériences sur la pression sanguine et sur la diurèse tendent plutôt à faire admettre qu'à certains égards elle peut même lui venir en aide, ainsi que nous pourrons nous en convaincre dans la suite.

Avant d'en arriver à ces points intéressants, il me paraît nécessaire de relater les expériences que j'ai faites avec mes préparations sur le cœur isolé de la grenouille, parce que les résultats que j'ai obtenus ne concordent pas entièrement avec ceux de BOCK. Cet auteur soutient en effet que la théobromine accélère la fréquence des battements du cœur, tout en diminuant le volume de chaque pulsation, de sorte que la pression aortique baisse.

Pour lui la diminution de volume de la pulsation est due à ce que le ventricule se remplit moins bien que normalement. C'est précisément sur ce dernier fait que mes observations diffèrent de celles de BOCK ; en ce qui concerne l'augmentation de la fréquence et la chute de la pression, ces phénomènes sont absolument établis : mes essais sont complètement d'accord à ce sujet avec ceux de v. SCHRÖDER, de COHNSTEIN, de THOMAS et de BOCK.

Comme mes préparations ne contiennent, en dehors de la théobromine sodée, aucune substance ayant une influence quelconque connue sur l'activité cardiaque, à dose moyenne du moins, elles me semblent convenir parfaitement pour l'étude de l'action de la théobromine sur le cœur.

1er Essai.

Charge optimum	Surcharge	Fréquence	Volume par 10 pulsations	Travail
21 centimètres	0 centimètre	38 puls. par min.	4,2 c.c.	0 centigr.
» »	10 centimètres	» »	3,9 c.c.	39 »
» »	20 »	» »	3,5 c.c.	70 »
» »	30 »	» »	3,2 c.c.	96 »
» »	35 »	» »	3,0 c.c.	105 »
» »	40 »	» »	2,85 c.c.	114 »
» »	45 »	» »	2,65 c.c.	119,25 »
» »	50 »	» »	2,4 c.c.	120 »
» »	55 »	» »	2,0 c.c.	110 »
» »	0 »	» »	4,3 c.c.	0 »

Addition au liquide nutritif de 0,004 gr. o/o de théobromine, sous forme de préparation au nitrate de sodium (0,0064 gr.)

Charge optimum	Surcharge	Fréquence	Volume par 10 pulsations	Travail
21 centimètres	0 centimètre	40 puls. par min.	4,6 c.c.	0 centigr.
» »	10 centimètres	42 » »	4,4 c.c.	44 »
» »	20 »	42 » »	4,0 c.c.	80 »
» »	30 »	43 » »	3,6 c.c.	108 »
» »	40 »	42 » »	3 c.c.	120 »
» »	50 »	43 » »	2,4 c.c.	120 »
» »	55 »	42 » »	2,0 c.c.	110 »
0 »	0 »	43 » »	4,3 c.c.	0 »
0 »	0 »	42 » »	4,6 c.c.	0 »

L'augmentation de la fréquence est donc manifeste, quoique assez faible. Par contre il n'y a pas de diminution de volume du pouls; au contraire, à faible surcharge, ce volume est plus grand que normalement; le travail par conséquent n'est pas réduit non plus; mais la force absolue montre plutôt une tendance à fléchir légèrement, puisque le maximum de travail de 120 centigr. est déjà atteint à 40 centimètres de surcharge, et se maintient à cette valeur à 50 centimètres, alors que normalement ce maximum n'est atteint qu'à 50 centimètres de surcharge. La force absolue, qui normalement donc peut être représentée par une colonne de liquide de 100 centimètres, est réduite à moins de 90 centimètres.

A dose plus forte, la tendance à la réduction de la force absolue s'accentue.

L'essai suivant permettra de s'en rendre compte.

Charge optimum	Surcharge	Fréquence	Volume de 10 pulsations	Travail
12 centimètres	0 centimètre	30 puls. par min.	2,4 c.c.	0 centigr.
» »	10 centimètres	» » »	2,2 c.c.	22 »
» »	20 »	» » »	2,0 c.c.	40 »
» »	30 »	» » »	1,9 c.c.	57 »
» »	35 »	32 » »	1,7 c.c.	59,5 »
» »	40 »	» » »	1,5 c.c.	60 »
» »	45 »	30 » »	1,3 c.c.	58,5 »
» »	0 »	32 » »	2,4 c.c.	0 »
Addition au liquide nutritif de 0,005 o/o de théobromine, sous forme de préparation au nitrate de sodium (0,009 gr.).				
12 centimètres	0 centimètre	36 puls. par min.	2,5 c.c.	0 centigr.
» »	0 »	38 » »	2,5 c.c.	0 »
» »	10 centimètres	» » »	2,35 c.c.	23,5 »
» »	20 »	» » »	2,2 c.c.	44 »
» »	30 »	» » »	1,9 c.c.	57 »
» »	40 »	» » »	1,4 c.c.	56 »
» »	0 »	» » »	2,4 c.c.	0 »

La fréquence est accélérée comme dans la première expérience (12,6 o/o); le volume du pouls, à faible surcharge, n'est pas diminué, au contraire, il est un peu augmenté; par contre, la force absolue du cœur est manifestement réduite : en effet, le cœur travaille fort bien quand la

résistance, qui lui est opposée, est faible ou moyenne; mais si on élève suffisamment la hauteur de surcharge, le cœur cède. Normalement, le maximum de travail était à 40 centimètres de surcharge de 60 grammes-centimètres; avec 0,005 % de théobromine, il n'est plus que de 57 grammes-centimètres, à 30 centimètres de surchage. La force absolue, qui était par conséquent normalement représentée par une colonne de liquide de 80 centimètres de hauteur, ne l'est plus que par une colonne de 60 centimètres, sous l'influence de la théobromine.

Je ne puis donc admettre que la diminution de la pression aortique soit due à une altération de l'élasticité du muscle cardiaque, qui empêcherait le ventricule de se remplir suffisamment et réduirait par suite le volume du pouls. Dans ce cas, le volume du pouls devrait être inférieur à la normale, aussi lorsque le cœur a peu à travailler; or, c'est justement l'inverse qui se présente; le volume est, ainsi que les essais précédents le démontrent, plutôt supérieur à la normale; l'élasticité du muscle cardiaque n'est donc pas altérée; elle semble plutôt renforcée. Mais la force absolue du cœur, elle, est réduite, et quand cet organe a à livrer un travail plus considérable, quand on élève la hauteur de surcharge, il n'est plus apte à résister, il ne lui est plus possible de fournir l'énergie dont il était capable avant l'intoxication; il en résulte que le ventricule, ne pouvant plus vaincre la résistance qui lui est opposée, ne se vide plus complètement, et, le volume du pouls diminuant, que la pression aortique tombe.

Je ne nie pas toutefois qu'à dose excessive, le muscle cardiaque ne puisse être atteint par l'action rigidifiante de la théobromine comme tous les muscles de l'économie; mais ce ne sont plus là des effets pharmacologiques.

S'il est impossible d'observer sur le cœur de la grenouille l'action nocive du salicylate dans l'application de la diurétine, à cause des quantités minimes de théobromine employées, cette influence se laisse démontrer clairement dans les expériences sur la pression sanguine du lapin. Ici les doses de théobromine que l'on peut administrer sont beaucoup plus élevées, et si l'on use de la diurétine, la proportion de salicylate que l'on introduit en même temps, est suffisante pour se faire sentir d'une façon toute désavantageuse; en effet, ce sel, par suite de son action débilitante sur le cœur, ne peut que *favoriser* l'abaissement de la pression sanguine, que la théobromine amène déjà par elle-même; tandis que, ainsi que nous le verrons plus loin, l'adjonction du nitrate et de l'acétate de sodium tend plutôt à réduire cette influence déprimante.

Pour que l'on puisse se faire une idée bien claire de ce fait, je donnerai

d'abord le compte-rendu d'un essai de v. SCHRÖDER, qui permettra de juger de l'action de la théobromine seule sur la pression du sang.

Temps	Pression en mm. de Hg.	Varia		
12 h. 20′ à 12 h. 41′	80—90—95	Pression normale.		
12 h. 41′		0,04 gr. de théobromine inj. dans la jugulaire.		
12 h. 45′ à 12 h. 55′	64—75			
12 h. 56′		0,02 gr.	id.	id.
12 h. 57′ à 1 h. 7′	64—73			
1 h. 8′		0,02 gr.	id.	id.
1 h. 10′ à 1 h. 20′	70—80			
1 h. 21′		0,02 gr.	id.	id.
1 h. 25′ à 1 h. 35′	70—78			
1 h. 35′ à 1 h. 45′	70—75			
1 h. 45′ à 1 h. 55′	70—75			
1 h. 56′		0,04 gr. de caféine injectée id.		
2 h. 5′		Caillot.		

Voici maintenant les chiffres que j'ai obtenus avec la diurétine :

Lapin de 2560 gr.

Temps	Pression en mm. de Hg.	Fréquence du pouls par min.	Varia		
4 h. à 4 h. 26′	128—130—126	240	Pression normale.		
4 h. 27′	124		0,03 gr. de diurétine = 0,015 de théobromine environ, inject. dans la jugulaire.		
4 h. 27′ 30″	124		0,03 gr. de diurétine, inj. dans la jugulaire.		
4 h. 28′	122		0,03 gr.	id.	id.
4 h. 29′	118	248	0,03 gr.	id.	id.
4 h. 29′ 30″	104—106				
4 h. 30′	108—110		0,03 gr.	id.	id.
4 h. 30′ 30″	108	270	0,03 gr.	id.	id.
4 h. 31′	104				
4 h. 32′	100		0,03 gr.	id.	id.
4 h. 33′	96	250	0,03 gr.	id.	id.
4 h. 33′ 30″	98		0,03 gr.	id.	id.
4 h. 34′	96		0,03 gr.	id,	id.
4 h. 35′	96		0,03 gr.	id.	id.
4 h. 36′	95		0,03 gr.	id.	id.
4 h. 37′	94				
4 h. 38′	96	270	0,03 gr.	id.	id.
4 h. 39′	98		0,03 gr.	id.	id.
4 h 40′	90		0,03 gr.	fd.	id.
4 h. 41′	92		0,03 gr.	id.	id.
4 h. 42′	94		0,03 gr.	id.	id.
4 h. 43′	94	280	0,03 gr.	id.	id.
4 h. 44′	90				
4 h. 46′	90	285			

Essai avec la théobromine sodée alliée au nitrate de sodium. Il fut fait usage d'une solution à 0,811/10 de la préparation, soit de 0,5/10 de théobromine.

Lapin de 2450 gr.

Temps	Pression en mm. de Hg.	Fréquence du pouls par min.	Varia
3 h. 10′ à 3 h. 35′	124—128	220—232	Pression normale.
3 h. 36′	128	225	0,013 gr. de *théobromine sous forme de sel double avec* NO_3Na dans la jugulaire,

Temps	Pression en mm. de Hg.	Fréquence du pouls par min.	Varia
3 h. 37′	130	240	0,013 gr. de *théobromine sous forme de sel double avec* NO_3Na dans la jugulaire.
3 h. 38′	130	240	0,013 gr. id. id.
3 h. 38′ 30″	132	238	0,013 gr. id. id.
3 h. 39′	130	240	0,013 gr. id. id.
3 h. 40′	131	240	
3 h. 40′ 30″	132	238	0,013 gr. id. id.
3 h. 41′	132	238	0,013 gr. id. id.
3 h. 41′ 30″	132	240	0,013 gr. id. id.
3 h. 42′	132	250	0,013 gr. id. id.
3 h. 42′ 30″	132	260	0,013 gr. id. id.
3 h. 43′	130	?	
3 h. 45′	128	?	
3 h. 46′	126	?	
3 h. 47′	124	?	0,013 gr. id. id.
3 h 48′	120		0,013 gr. id. id.
3 h. 48′ 30″	120		0,013 gr. id. id.
3 h. 49′	118		0,013 gr. id. id.
3 h. 49′ 30″	115		0,013 gr. id. id.
3 h. 50′	112		0,013 gr. id. id.
3 h. 50′ 30″	114		0,013 gr. id. id.
3 h. 51′ 30″	108—110		0,013 gr. id. id.
3 h. 52′	105—107		0,013 gr. id. id.
3 h. 52′ 30″	100—106		0,013 gr. id. id.
3 h. 53′	108—110		
3 h. 54′	110—114		
4 h. 5′	114—116		

Essais avec la théobromine sodée alliée à l'acétate de sodium ou agurine.

1) Lapin de 2350 gr.

3 h. 35′ à 3 h. 40′	74—81	168—170	Pression normale.
3 h. 41′	82—86		
3 h. 42′	78—80		Injection dans la jugulaire de 0,15 gr. d'agurine = 0,0883 de théobromine.
3 h. 43′	82—84		
3 h. 43′ 30″	81—84		
3 h. 44′	74—80		
3 h. 46′	74—80		
3 h. 47′	80—85	222	
3 h. 48′	83—88		
3 h. 50′	75—82		
3 h. 50′ 30″	82—86		
3 h. 51′	82—86		
3 h. 52′	72—78		Injection de 0,15 gr. d'agurine dans la jugulaire.
3 h. 53′	72—78		
3 h. 54′	70—66—62		
3 h. 54′ 30″	68—72		
3 h. 56′	66—71		
3 h. 57′	75—80	220	
3 h. 58′	74—70		
4 h. 2′	76—82		
4 h. 3′	74—78		
4 h. 4′	72—78		
4 h. 5′	72—78—80		Injection de 0,12 gr. d'agurine dans la jugulaire = 0,071 de théobromine.
4 h. 6′	70—80		
4 h. 7′	72—80		
4 h. 7′ 30″	72—76		
4 h. 9′	74—80		
4 h. 10′	71—76		
4 h. 11′	76—82		
4 h. 12′	76—80		
4 h. 13′	75—80		
4 h. 14′	72—78		

Temps	Pression en mm. de Hg.	Fréquence du pouls par min.	Varia
4 h. 15′	68—70		
4 h. 16′	76—78		Injection dans la jugulaire de 0,03 gr. d'agurine = 0,0177 de théobromine.
4 h. 17′	76—78		
4 h. 18′	76—78		
4 h. 19′	70—74		
4 h. 20′	72—80	?	
4 h. 22′	68—74		
4 h. 24′	72—78		
4 h. 25′	72—74		
4 h. 28′	72—78		
4 h. 32′	72—78	?	
4 h. 34′	76—82	?	

2° Même essai sur un chat de 2700 gr.

Temps	Pression en mm. de Hg.	Nombre de pulsations par min.	Varia
10 h. 35′ à 10 h. 40′	116—120	162	Pression normale.
10 h. 41′			
10 h. 42′	115		
10 h. 43′	115		
10 h. 44′	115		0,15 gr. d'agurine, injecté dans la jugulaire.
10 h. 45′	115		
10 h. 46′	115		
10 h. 47′	115		
10 h. 49′	116	186	
10 h. 50′	116		
10 h. 52′	114		
10 h. 53′	106		0,15 gr. d'agurine dans la jugulaire.
10 h. 56′	110		
10 h. 57′	110		
10 h. 58′	106	216	
10 h. 59′	104		
11 h.	122		
11 h. 2′	118		
11 h. 4′	120		
11 h. 6′	112	204	Accident mettant fin à l'essai et amenant la mort de l'animal, par pénétration dans le cœur de la solution de sulfate de magnésie qui remplit la canule introduite dans la carotide.

J'ai réuni les résultats de ces essais dans deux graphiques, que l'on trouvera à la fin de ce travail. (Planche, tracés II et III.)

Dans le premier de ces tracés, j'ai reproduit les valeurs de la pression sanguine telles qu'elles ont été observées ; dans le second, pour la facilité et la clarté de la comparaison, j'ai réduit ces valeurs en pour cent de la normale.

Nous pouvons résumer toutes ces données dans le tableau suivant :

A) **Valeur réelle :**

	Diurétine	Agurine	Préparation au nitrate
Normale. . . .	128—126—130 mm.	*a)* 74—81 mm. (Lapin)	124—128 mm.
Après 0,09 gr. de théobrom. environ	**104—100** mm. abaissement de 24—26 mm.	**80—86** mm. augmentation : 5—6 mm. *b)* 116—120 mm. (Chat) **115—116** mm. chute : 0—5 mm.	**130—132** mm. augmentation : 4—6 mm.
Après 0,18 gr. de théobrom. environ	**94—96** mm. abaissement de 34—32 mm.	*a)* **68—77—72—78** mm. abaissement de 3—6 mm. *b)* **104—120** mm. abaissement de 0—12 mm.	**115—118** mm. abaissement : 9—10 mm.
Après 0,25—0,27 gr. de théobromine .	**90** mm. abaissement de 36—40 mm.	*a)* **72—76** mm. abaissement de 2—5 mm.	**102—112** mm. abaissement : 22—16 mm.

B) **Valeur par rapport à une normale commune de 100 mm. :**

	Diurétine	Agurine	Préparation au nitrate
Après envir. 0,09 gr. de théobromine .	**81—85** mm. abaissement de 15—19 %	*a)* Lapin, **100-107-111** mm. élévation de 0 à 7 et 11 % *b)* Chat, **97—98** mm. abaissement de 2—3 %	**103—104** m.m. élévation de 3—4 %
Après envir. 0,18 gr. de théobromine .	**73—75** mm. abaissement de 25—27 %	*a)* **85—90** et **100—102** mm. abaissem. de 0—10 et 15 % en moyenne **6** % *b)* **88—100** mm. abaissement de 0—12 % en moyenne 3 % environ	**91** mm. abaissement de 9 %
Après envir. 0,25 à 0,27 gr. de théobr.	**70** mm. abaissement de 30 %	*a)* en moyenne **95** mm. abaissement de 5 %	**82—89** mm. abaissement de 11—18 % en moyenne 15 % envir.

Il ressort à toute évidence de ces essais, que c'est la préparation au salicylate de sodium, la diurétine, qui amène la plus forte diminution de la pression sanguine. A faible dose déjà elle produit cet effet, alors qu'avec une dose semblable l'agurine et la préparation au nitrate n'abaissent pas la pression artérielle et montrent même plutôt une tendance à la renforcer, comme on peut l'observer dans les deux essais sur le lapin ; chez le chat, la pression est restée pour ainsi dire inaltérée.

A forte dose, les trois préparations réduisent la pression du sang, mais tandis que cette action n'est qu'assez faible pour l'agurine et la préparation au nitrate, elle est beaucoup plus intense avec la diurétine.

Le salicylate de sodium paraît donc *soutenir* l'action *réductrice* de la théobromine sur la pression artérielle ; les deux autres sels paraissent plutôt la *diminuer* et en affaiblissant cette influence peu désirée de la théobromine, elles ne peuvent que favoriser ses effets diurétiques, et la rendre plus inoffensive encore, dans les affections où l'activité cardiaque est débile et la circulation gênée.

Pour bien prouver cette action désavantageuse du salicylate de sodium sur la pression sanguine, j'ai entrepris deux essais comparatifs, l'un avec le sel, l'autre avec l'acétate de sodium.

1r Essai avec le salicylate. Lapin de 2500 gr.

Temps	Pression en mm. de Hg.	Varia
9 h. 29' à 9 h. 32'	112—116	Pression normale.
9 h. 33' à 9 h. 36'		0,24 gr. de salicyl. de Na dans la veine jugulaire.
9 h. 38'	106	
9 h. 38' 30"	104	
9 h. 39' à 9 h. 42'		0,24 gr. de salicylate.
9 h. 42'	104	
9 h. 43'	108	
9 h. 44'	106—108	
9 h. 45'	100	
9 h. 47'	94	
9 h. 48'	86	
9 h. 49'	84	
9 h. 50'	82	
9 h. 53'	84	
9 h. 55'	82	
10 h.	86	

2e Essai avec l'acétate de sodium. Lapin de 2600 gr.

10 h. 34' à 10 h. 39'	86—92	
10 h. 39' à 10 h. 42'		Injection intrajugulaire de 0,4 gr. d'ac. de Na (avec 3 H_2O).
10 h. 43'	92	
10 h. 44'	96—100	
10 h. 45'	88— 92	
10 h. 46'	90	
10 h. 47'	100—104	
10 h. 48'	92	
10 h. 50'	94	
10 h. 51'	84—90	
10 h. 52' à 10 h. 55'		Injection de 0,4 gr. d'acétate.
10 h. 56'	96—98	
10 h. 58'	86—90	
10 h. 59'	88—90	
11 h.	88—90	
11 h. 3'	94—96	
11 h. 4'	90—92	
11 h. 5'	88—90	

Alors qu'avec 0,5 gr. de salicylate la pression *tombe de 112-116 millimètres à 82 millimètres, soit de 28 °/o environ*, avec 0,8 gr. d'acétate, quantité équimoléculaire à celle du premier sel, *elle tend plutôt à s'élever quelque peu au dessus de la normale.* (On trouvera Planche IV, un graphique reproduisant le cours de ces deux essais.)

Ces expériences viennent à nouveau démontrer le désavantage qu'il y a à adjoindre le salicylate à la théobromine sodée, l'illogisme de la préparation que l'on nomme diurétine. De même elles permettent de se rendre compte aussi de l'amélioration obtenue en remplaçant le salicylate par l'acétate de sodium. Outre ses avantages au point de vue de l'atténuation de la causticité de la théobromine sodée, l'acétate de sodium est donc, au

point de vue physiologique et pharmacologique, indubitablement de beaucoup supérieur au salicylate, dans le cas qui nous occupe. En effet, comme on peut s'en convaincre par l'étude de la littérature qui s'y rapporte, l'acétate de sodium n'est ni irritant pour les muqueuses, puisqu'on le prescrit dans les affections catarrhales de l'estomac (NOTHNAGEL et ROSSBACH, p. 41, 7me édition), ni toxique en aucune manière. Il se transforme en carbonate de sodium dans l'intestin déjà, en majeure partie dans le sang cependant, dont il augmente l'alcalinité, plus que le bicarbonate de sodium, qui n'est que plus lentement résorbé. On ne peut lui reprocher aucune action nuisible sur l'activité cardiaque, ni sur le système nerveux. (Je laisse de côté ici les phénomènes observés sous le nom de cachexie alcaline; ils n'ont rien à voir en l'affaire, car ils n'ont été constatés qu'à la suite d'abus considérables d'alcalins et sont de plus niés par nombre d'auteurs.) Il n'est pas irritant non plus pour le rein. Son action diurétique, sans être très puissante, est cependant incontestable, et l'acétate est un médicament employé fréquemment, du moins sous forme de sel de potassium, dans les hydropisies de toutes sortes, les pleurésies, les endocardites, les péricardites, les affections aiguës du parenchyme rénal. (Voir, pour l'action diurétique des alcalins, carbonates et sels d'acides végétaux : HARNACK, Arzneimittelehre, p. 177; KESSLER, *Versuche über die Wirkung einiger Diuretica*, Diss. Dorpat. 1877; GRÜTZNER, PFLÜGER's Archiv., Bd. XI, p. 370, 1875; WEIKART, Arch. der Heilkunde, Bd. II, p. 69, 1861; IMMERMANN, Correspondenzblatt f. schweizer Aerzte, nr 11, 1873.)

On considère souvent les sels de potassium comme ayant des propriétés diurétiques un peu plus prononcées que les sels correspondants de sodium; ce point n'est pas élucidé, et l'on trouve des sels de sodium plus diuretiques que les sels analogues de potassium, ainsi le nitrate de sodium, qui, selon RABUTEAU et JOVITZU, a une action plus énergique que le nitre sur la sécrétion rénale.

Comme dans les affections où l'on ordonne la théobromine, l'influence bien spéciale du potassium sur le cœur peut devenir dangereuse, j'ai choisi l'acétate de sodium au lieu de l'acétate de potassium; au point de vue chimique également ce dernier sel est inutilisable dans la préparation de sels doubles de théobromine. Il est en effet très déliquescent et de mauvaise conservation. De plus il est doué de propriétés irritantes, qui se manifestent souvent d'une façon désagréable (GUBLER).

Puisque les acétates alcalins se transforment dans le sang en carbonates, ils peuvent, à forte dose, rendre les urines alcalines. A cause de cet effet on les a déclarés contre-indiqués dans le catarrhe vésical, dans les cas

d'urine ammoniacale, dans la gravelle phosphatique, l'oxalurie. Ces contre-indications ne peuvent s'appliquer à l'agurine; car la dose journalière d'agurine étant de 2 à 4 grammes, la dose d'alcalin que l'on administre avec elle ne peut suffire à rendre les urines alcalines, loin de là. En effet, deux grammes d'agurine contiennent 0,32 gramme de sodium; or la quantité d'acide sécrété quotidiennement par l'urine correspond à 2,3 grammes environ d'acide chlorhydrique; de plus les 70 à 80 centigr. d'ammoniaque qui se trouvent dans l'urine sous forme de sel d'ammonium, correspondent à environ 1,4 gr. d'acide chlorhydrique, de sorte que l'organisme dispose par 24 heures d'une quantité d'acide que l'on peut évaluer comme équivalent à 3,7 gr. d'acide chlorhydrique (Hammarsten). La quantité d'alcalin contenue dans nos deux grammes d'agurine, soit 0,32 gr. de sodium, ne peut neutraliser que 0,475 gr. d'acide chlorhydrique; celle qui correspond à 4 grammes de notre sel double ne peut donc neutraliser tout au plus que 0,950 gr. d'acide chlorhydrique; cela ne fait pas encore le tiers de la quantité d'acide que l'organisme élimine par jour. Nous voyons que nous sommes bien éloigné d'arriver à alcaliniser l'urine.

D'ailleurs, à défaut de l'agurine, on pourrait administrer la préparation au nitrate de sodium. Ce dernier sel jouit aussi de propriétés diurétiques, plus fortes que celles du nitrate de potassium, ainsi que je viens de le dire; il est aussi moins toxique que le salpêtre; il est même très inoffensif, car on en peut injecter 5 grammes dans les veines d'un chien de taille moyenne sans observer d'accidents. Il n'est pas irritant, et ne produit par lui-même pas de troubles digestifs (Nothnagel et Rossbach, loc. cit., p. 75).

A dose non exagérée, le nitrate de sodium n'a pas d'action sur le cœur, ni sur la respiration, ni sur le système nerveux. Barth et Binz ont démontré que les cas d'intoxications que l'on a observés chez les animaux herbivores surtout, à la suite de l'ingestion de nitrate de sodium avec les aliments, étaient dus à la réduction du nitrate en nitrite.

Chez l'homme, cette transformation est fort rare, et ne se produit qu'exceptionnellement, lorsque, par exemple, à la suite de troubles de la digestion intestinale, il s'accumule dans l'intestin une quantité considérable de matières réductrices. De plus, la quantité de nitrite qui se forme ainsi n'est jamais considérable.

Il nous reste, pour terminer cette étude, à élucider la question la plus importante de ce travail : quelle est la valeur diurétique de mes nouvelles préparations, de mes nouveaux « sels doubles » de théobromine? A priori on est en droit de répondre avec certitude qu'elle ne peut être inférieure à celle de la diurétine.

Avant de reproduire les essais qui se rapportent à ce sujet, je tiens à faire quelques observations à propos de l'action des diurétiques.

Il existe dans les divers tissus de l'organisme une quantité de liquide qui est nécessaire au maintien de leur vitalité et au fonctionnement normal des diverses organes qu'ils constituent; cette quantité est pour chaque espèce de tissu une *constante,* et la somme de ces diverses quantités forme pour l'économie en général, une *constante* également.

Ce volume total de liquide, que je nommerai *fixe,* est sujet à des variations locales, qui dépendent des phénomènes mêmes de la vie; il subit continuellement une forte déperdition, occasionné par l'élimination de liquide qui se produit à chaque instant par la voie des diverses organes sécrétants. L'eau qui est résorbée par les muqueuses de l'appareil digestif, ne se fixe dans les tissus *qu'en proportion de la déperdition* dont je viens de parler; le surplus, que je nommerai *la quantité mobile* du liquide de l'organisme, est éliminé successivent et assez rapidement, par la voie rénale surtout et dans certaines circonstances d'une façon notable aussi par la peau. Le poumon exhale également une quantité assez considérable de vapeur d'eau.

Un organisme normal ne contient donc toujours qu'une quantité relativement faible de liquide mobile. Dans certains états pathologiques, cette quantité mobile de liquide s'accumule dans le corps; la circulation ou l'élimination sont insuffisantes, ainsi dans les affections cardiaques, rénales par exemple. Dans d'autres cas ce sont les tissus qui retiennent une plus grande quantité d'eau, comme dans le lymphatisme.

Or il se fait que les diurétiques, en général, n'ont que peu de prise sur la *partie fixe* de liquide de l'économie; il leur est en effet impossible de réduire, en stimulant la sécrétion de la grande rénale, la quantité d'eau qui est indispensable aux tissus pour l'entretien de leur existence et pour l'accomplissement de leur fonction.

Ce n'est donc que l'élimination du volume *mobile* de liquide, qu'ils peuvent augmenter ou accélérer.

Il en résulte que chez les individus sains et normaux, les diurétiques n'auront que peu ou pas d'effet. Tout au plus pourront-ils accroître la rapidité avec laquelle l'organisme se débarrasse de la quantité mobile de liquide qu'il contient, et amener ainsi une diurèse relative, c'est-à-dire exagérer momentanément la sécrétion urinaire, sans augmenter le volume total de l'urine émise par 24 heures.

Il en est tout autrement si nous avons à faire à des sujets malades, à des cardiaques, à des néphrétiques, chez lesquels, ainsi que je viens de

le dire, il se produit des accumulations de liquides en divers points de l'économie; dans ce cas, si le rein est encore perméable, les diurétiques pourront développer toute leur action et amèneront même parfois de véritables débacles urinaires.

Ces données doivent être prises en considération dans toutes les expériences sur la diurèse.

Les chiens, par exemple, ne conviennent pas du tout pour ce genre d'essais; la quantité de liquide mobile, qu'ils ont dans l'organisme, est trop restreinte; les meilleurs diurétiques n'ont chez eux que peu d'effet.

Les lapins, au contraire, ont toujours une provision d'eau en excès, facile à déplacer. Leurs tissus sont plus riches en liquide mobile que ceux du chien; ces animaux ont même en général une certaine quantité de sérosité accumulée dans la cavité péritonéale, une sorte d'ascite légère normale.

Ils conviennent donc d'une façon admirable pour les expériences sur la diurèse.

Il faut toutefois que je fasse remarquer ici que le genre de nourriture influe beaucoup, chez eux, sur leur provision de liquide; avec des aliments secs, elle diminue naturellement d'une facon considérable, sans devenir pourtant aussi réduite que chez le chien.

L'augmentation absolue de la quantité d'urine qu'amèneront les diurétiques, sera donc dans ce cas faible; par contre, si les aliments sont riches en eau (feuilles vertes, racines fraîches), la provision de liquide mobile sera considérable et l'on obtiendra des diurèses énormes, relativement au poids de l'animal. Ce serait donc une erreur de vouloir comparer dans ces deux cas l'augmentation *absolue* de la quantité d'urine obtenue par l'administration de diurétiques. Pour se rendre compte de l'effet diurétique d'un médicament, il ne faut donc pas, comme v. Schröder l'a fait, soustraire de la quantité d'urine émise pendant un temps donné, après l'ingestion de la substance diurétique, la quantité d'urine que l'on aurait par le calcul attendue normalement, pendant ce même temps, en se basant sur la sécrétion ordinaire, et considérer l'excès ainsi obtenu, après l'avoir réduit à sa valeur pour 100 grammes du poids de l'animal, comme représentant l'effet diurétique.

Cet excès, en réalité, ne dépend pas seulement de l'action diurétique, mais surtout de la provision d'eau que l'animal avait accumulée dans son organisme avant l'ingestion du médicament. Il serait par conséquent faux de se baser sur lui pour évaluer l'énergie d'un diurétique.

Mais si l'on ne peut logiquement comparer l'augmentation *absolue* des quantités d'urine, on peut en comparer l'augmentation *relative* par rapport

à la somme d'urine émise normalement pendant un même laps de temps.

Car il est évident que si le lapin secrète normalement beaucoup d'urine, c'est que la quantité de liquide « mobile », qu'il a en réserve, est considérable; on pourra donc s'attendre chez lui à une diurèse notable; par contre, si normalement l'animal n'émet que fort peu d'urine, le même médicament ne produira qu'une augmentation absolue très faible de la sécrétion rénale; les valeurs absolues de la diurèse, dans ces deux cas, ne seront donc pas comparables; mais le rapport entre les volumes sécrétés normalement et ceux de l'excédent d'urine émis après l'administration du diurétique, sera dans les deux cas *à peu près le même*, et pourra être considéré comme *l'expression de l'effet diurétique du médicament employé*.

Il n'y aura donc plus qu'à tenir compte des différences individuelles; le même diurétique n'a pas chez tous les sujets le même effet sur la sécrétion rénale; mais chez un même individu, en évaluant l'effet diurétique, comme je viens de l'indiquer, nous obtiendrons des résultats toujours constants, quelque soit le genre de nourriture et par suite la réserve de liquide que l'animal ait eus.

Si l'on parvenait, par une alimentation appropriée, à régler cette réserve d'eau des lapins en expérience, la façon de calculer l'effet diurétique de v. SCHRÖDER serait exacte; mais, malgré de nombreux essais tentés à ce point de vue, il est impossible d'atteindre pareil résultat; et cela tient surtout à ce que le volume de l'eau, que l'animal accumule dans son économie, ne dépend pas seulement de son alimentation seule, mais aussi d'un ensemble de facteurs très complexe que nous ne pouvons diriger à volonté.

Pour calculer l'effet diurétique nous nous y prendrons par conséquent comme suit : après avoir recueilli pendant plusieurs heures l'urine émise normalement, à partir d'un temps donné après le dernier repas, nous évaluerons la quantité sécrétée par heure et par kilogramme d'animal; ensuite, après administration de la substance à étudier, nous mesurerons toutes les heures le volume d'urine émis, nous le réduirons à sa valeur par kilogramme, nous soustrairons de ce chiffre la quantité normale par heure et kilogramme et nous établirons le rapport pour cent, entre le reste ainsi obtenu et la quantité normale.

Après ces préliminaires nécessaires à la compréhension des résultats que j'ai obtenus, passons aux essais mêmes.

V. SCHRÖDER a recueilli les urines du lapin mâle en comprimant et en exprimant la vessie à des intervalles déterminés; cette opération si délicatement qu'on la fasse n'est pas sans nuire à l'animal; de plus il n'est pas

certain qu'elle vide complètement la vessie. C'est pourquoi j'ai préféré avoir recours au cathétérisme, au moyen de la sonde préconisée par TAPPEINER. De cette façon on peut évacuer entièrement la vessie, et l'on ne s'expose pas à blesser cet organe.

Dans les essais dont la relation va suivre, le premier sondage a toujours été opéré environ 14 à 15 heures après le dernier repas.

A) *Essais sur la diurèse avec la diurétine.*

1° Lapin mâle de 1600 gr. *Nourriture fraîche.*

Normale : 9 h. 5′, évacution de l'urine de nuit qui n'entre pas en considération.

10 h. 5′, émisssion de 9,5 c.c. d'urine
11 h. 5′, » » 5 c,c. »
12 h. 5′, » » 3 c.c. »
13 h. 5′, » » 4 c.c. »
14 h. 5′, » » 1,5 c.c. »
} Moyenne par heure : 4,6 c.c. *Moyenne par heure et kilogr. :* ***2,87*** *c.c.*

14 h. 10′, ingestion per os de 1,50 gr. de diurétine dans 20 c.c. d'eau.
15 h. 5′, émission de 14 c.c. d'urine = **8,75** c.c. par heure et kilogr.
16 h. 5′, » » 17 c.c. » = **10,62** c.c. » » » »
17 h. 5′, » » 22 c.c. » = **13,75** c.c. » » » »

Effet diurétique : 1re heure : 8,75 — 2,87 = 5,88. Ce qui donne par rapport à la normale 2,87, un effet diurétique de **204,6** °/o.

2e heure : 10,62 — 2,87 = 7,75 = effet diurétique de **270** °/o.

3e heure : 13,75 — 2,87 = 10,88 = effet diurétique de **379** °/o.

Je dois rappeler ici que les 20 c.c. d'eau, ingérés en même temps que la diurétine, sont sans influence sur la diurèse (cf. v. SCHRÖDER, l. cit.)

2° Lapin mâle de 1500 gr. *Nourriture fraîche.*

Normale : 9 h. 25′, évacuation de l'urine de nuit.

10 h. 35′, émission de 9,5 c.c. d'urine
11 h. 35′, » » 8 c.c. »
12 h. 35′, » » 3 c.c. »
13 h. 35′, » » 2,5 c.c. »
14 h. 35′, » » 2,5 c.c. »
} Moyenne par heure et kilogr. : **3,4** c.c.

14 h. 45′, ingestion de 1,50 gr. de diurétine per os avec 20 c.c. d'eau.
15 h. 35′, émission de 19 c.c. d'urine = **12,66** c.c. par heure et kilogr.
16 h′ 35′, » » 28 c.c. » = **18,66** c.c. » » » »
17 h. 35′, » » 25 c.c. » = **16,66** c.c. » » » »

Effet diurétique calculé comme plus haut :

pour la 1re heure : **272** °/o de la normale.
» 2e » **448** °/o »
» 3e » **390** °/o »

3° Lapin mâle de 1600 gr. *Nourriture sèche.*

Normale : 8 h. 50′, évacuation de l'urine de nuit.

9 h. 50′, émission de 2 c.c. d'urine
10 h. 50′, » » 1,5 c.c. »
} Moyenne par heure : 1,75 c.c. Moyenne par heure et kgr. : **1,093** c.c

10 h. 52', ingestion de 1,5 gr. de diurétine, avec 20 c.c. d'eau.
11 h. 50', émission de 5 c.c. d'urine = **3,12** par heure et kilogr.
12 h. 50', » » 2 c.c. » = **1,25** » » » »
13 h. 50', » » 5 c.c. » = **3,12** » » » »
14 h. 50'. » » 3 c.c. » = **1,87** » » » »

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **185,4** % de la normale
» 2e » **14,33** % »
» 3e » **185,4** % »
» 4e » **72** % »

4° Lapin mâle de 3100 gr. *Nourriture fraîche.*

Normale : 9 h. 20', évacuation de l'urine de nuit.
11 h. 55', émission de 37 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kgr. : **3,59** c.c
15 h. 5', » 27,3 c.c. »
15 h. 6', ingestion de 1,2 gr. de diurétine per os avec 20 c.c. d'eau.
16 h. 5', émission de 70 c.c. d'urine = **22,5** par heure et kilogr.
17 h. 5', » 60 c.c. » **19,35** »
18 h. 5', » 30 .cc. » **9,67** »

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **527** % de la normale
» 2e » **439** % »
» 3e » **169,3** % »

5° Lapin mâle de 3190 gr. *Nourriture sèche.*

Normale : 9 h. 15', évacuation de la vessie.
12 h., émission de 24 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kgr. : **1,9** c.c.
15 h., » 11 c.c. »

Poids spécifique de ces urines **1,020**.

15 h. 6', ingestion per os de 1,2 gr. de diurétine avec 20 c.c. d'eau.
16 h., émission de 19 c.c. d'urine = **5,95** par heure et kilogr, ; poids spécifique : **1,017**.
17 h., » 23,5 c.c. » **7,36** » » **1,0185**.
18 h., » 15 c.c. » **4,7** » » **1,0189**.

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **213,2** % de la normale
» 2° » **287,5** % »
» 3° » **147,4** % »

6° Lapin mâle de 3560 gr. *Nourriture sèche.*

Normale : 9 h. 15', évacuation de la vessie.
11 h. 18', émission de 9 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kgr. : **0,69** c.c.
14 h. 50', » 5 c.c. »

Poids spécifique : **1,030**.

14 h. 55', ingestion de **1,2** gr. de diurétine avec 20 c.c. d'eau.
15 h. 50', émission de **19,5** c.c. = **5,47** par heure et kilogr. ; poids spécifique : **1,028**.
16 h. 50', » » 16,5 c.c. = **4,63** » » » **1,024**.
17 h. 50', » » 15,5 c.c. = **4,35** » » » **1,025**.

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **693** °/o de la normale.
» 2e » **571** °/o »
» 3e » **530** °/o »

7° Lapin mâle de 3480 gr., *Nourriture sèche.*

Normale : 9 h. 20′, évacuation de la vessie.
11 h. 25′, émission de 5 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kilogr. : **0,75** c.c
14 h. 58′, » » 10 c.c. » } Poids spécifique : **1,032**.
15 h. ingestion de 1,2 gr. de diurétine per os 20 c.c. d'eau.
15 h. 58′, émission de 6,5 c.c. d'urine = **1,86** par heure et kilogr. ; poids spéc. : **1,026**.
16 h. 58′, » » 17,5 c.c. » = **5,02** » » » **1,021**.
17 h. 58′, » » 10 c.c. » = **2,8** » » » **1,022**

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **148** °/o de la normale.
» 2e » **569** °/o »
» 3e » **273** °/o »

B) *Essais avec la théobromine sodée alliée au nitrate de sodium.*

1° Lapin mâle de 3105 gr. *Nourriture sèche.*

Normale : 9 h. évacuation de la vessie.
11 h. émission de 5 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kilogr. : **0,77** c.c.
14 h 50′ » » 9 c.c. » } Poids spécifique : **1,028**.
14 h. 55′, ingestion de 1 gr. de la préparation au nitrate, per os avec 20 c.c. d'eau.
15 h. 50′, émission de 14 c.c. d'urine = **4,5** c.c. par heure et kilogr. ; poids spécif. : **1,016**.
16 h. 50′, » » 31 c.c. » = **9.98** c.c. » » » » » » **1,012**.
17 h. 50′, » » 25 c.c. » = **8,045** c.c. » » » » » » **1,013**.

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **485** °/o de la normale.
» 2e » **1197** °/o »
» 3e » **944** °/o »

2° Lapin de 3520 gr. *Nourriture sèche.*

Normale : 9 h , évacuation de la vessie.
11 h., émission de 26,5 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kilogr.: **1,96** c.c.
14 h. 50′, » » 14 c.c. » } Poids spécifique : **1,028**.
15 h., ingestion de 1 gr. de la préparation, per os avec 20 c.c. d'eau.
15 h. 50′, émission de 36 c.c. d'urine = **10,22** par heure et kilogr.; poids spécifique : **1,015**.
16 h. 50′, » » 25 c.c. » = **7,1** » » » » » » **1,015**.
17 h. 50′, » » 20 c.c. » = **5,7** » » » » » » **1,018**.

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **421** °/o de la normale.
» 2e » **262** °/o »
» 3e » **191** °/o »

3° Lapin mâle de 3100 gr. *Nourriture fraîche.*

Normale : 9 h. 25′, évacuation de la vessie.
11 h. 17′, émission de 8 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kilogr.: **2,638** c.c.
14 h. 55′, » » 37 c.c. » } Poids spécifique : **1,022**.

15 h., ingestion per os de 1 gr. de la préparation, avec 20 c.c. d'eau.
15 h. 55', émission de 48 c.c. d'urine = **15,48** par heure et kilogr.: poids spécifique: **1,0155.**
16 h. 55', » » 58 c.c. » = **18,7** » » » » » » **1,010.**
17 h. 55', » » 25 c.c. » = **8,06** » » » » » » **1,016.**

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **488** % de la normale.
» 2e » **609** % »
» 3e » **205** % »

4° Lapin mâle de 3200 gr. *Nourriture fraîche.*

Normale : 9 h. 20', évacuation de la vessie.
11 h. 30', émission de 31 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kgr. : **2,51** c.c
15 h. 10' » 15 c.c. » } Poids spécifique : **1,025** c.c.

15 h. 14', ingestion per os de 1,3 gr. de la préparation, avec 20 c.c. d'eau.
16 h. 10', émission de 54 c.c. d'urine = **16,88** par heure et kilogr.; poids spécifique : **1,012.**
17 h. 10', » 42 c.c. » **13,1** » » **1,015.**
18 h. 10', » 30 c.c. » **9,36** » » **1,017.**

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **571** % de la normale.
» 2e » **421** % »
» 3e » **272** % »

5° Lapin mâle de 3000 gr. *Nourriture sèche.*

Normale : 9 h. 32', évacuation de la vessie.
11 h. 32', émission de 4 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kilogr. : **0,748** c.c.
15 h. 10', » 9 c.c. » } Poids spécifique : **1,030** c.c.

15 h. 23', ingestion de 1 gr. de la préparation, per os avec 20 c.c. d'eau.
16 h. 20', émission de 12 c.c. d'urine = **4** par heure et kilogr.; poids spécifique : **1,018.**
17 h. 20', » 15 c.c. » **5** » » **1,018.**
18 h. 20', » 16 c.c. » **5,33** » » **1,019.**

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **435** % de la normale.
» 2e » **569** % »
» 3e » **612** % »

c) *Essais avec l'agurine.*

1° Lapin mâle de 3200 gr. *Nourriture fraîche.*

Normale : 9 h. 5', évacuation de la vessie.
11 h. 30', émission de 27,5 c.c. d'urine }
14 h. 15', » 7 c.c. » } Moyenne par heure et kilogr. : **3,1** c.c.
15 h. 5', » 25 c.c. » }

15 h. 7', ingestion per os de 1,2 gr. d'agurine, avec 20 cc. d'eau.
16 h. 5', émission de 52 c.c. d'urine = **16,25** par heure et kilogr.
17 h. 5', » » 33 c.c. » = **10,31** » »

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **424** % de la normale.
» 2e » **232** % »

2° Lapin mâle de 3555 gr. *Nourriture sèche.*

Normale : 9 h. 5', évacuation de la vessie.

11 h. 4', émission de 6 c.c. d'urine. } Moyenne par heure et kilogr. : **0,53** c.c.
14 h. 55', » » 5 c.c. » } Poids spécifique : **1,035.**

15 h. ingestion per os de 1 gr. d'agurine, avec 20 c.c. d'eau.

15 h. 55', émission de 15 c.c. d'urine = **4,21** par heure et kilogr. ; poids spécif. : **1,024.**
16 h. 55', » » 15 c.c. » = **4,21** » » » **1,022.**
17 h. 55', » » 11 c.c. » = **3,095** » » » **1,025.**

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **694** o/o de la normale.
» 2e » **694** o/o »
» 3e » **483** o/o »

3° Lapin mâle de 3550 gr. *Nourriture sèche.*

Normale : 9 h. 10', évacuation de la vessie.

11 h. 55', émission de 6 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kilogr. : **1,399** c.c.
15 h. » » 23 c.c. » } Poids spécifique : **1,037.**

15 h. 5', ingestion de 1 gr. d'agurine, per os, avec 20 c.c. d'eau.

16 h., émission de 35 c.c. d'urine = **9,85** c.c. par heure et kilogr. ; poids spécif. : **1,013.**
17 h., » » 33 c.c. » = **9,3** c.c. » » » **1,013.**
18 h., » » 20 c.c. » = **5,63** c.c. » » » **1,017.**

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **604** o/o de la normale.
» 2e » **565** o/o »
» 3e » **309,2** o/o »

4° Lapin mâle de 3350 gr. *Nourriture sèche.*

Normale : 9 h. 25', évacuation de la vessie.

11 h. 25', émission de 4 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kilogr. **0,3068** c.c.
15 h. 15', » » 2 c.c. » } Poids spécifique : **1,018.**

15 h. 16', ingestion de 1,3 g. d'agurine, per os avec 20 c.c. d'eau.

16 h. 14', émission de 12 c.c. d'urine = **3,58** c.c. par heure et kgr., poids spéc. : **1,012.**
17 h. 15', » » 5 c.c. » = **1,49** c.c. » » » **1,013.**
18 h. 15', » » 10 c.c. » = **2,98** c.c. » » » **1,013.**

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **1070** o/o de la normale.
» 2e » **387** o/o » »
» 3e » **873** o/o » »

5° Lapin mâle de 3100 gr. *Nourriture fraîche.*

Normale : 9 h. 5', évacuation de la vessie.

11 h. 35', émission de 32 c.c. d'urine } Moyenne par heure et kilogr. : **2,54** c.c
15 h. 25', » » 18 c.c. » } Poids spécifique : **1,022.**

15 h. 27', ingestion per os de 1 gr. d'agurine avec 20 c.c. d'eau.

16 h. 25', émission de 45 c.c. d'urine = **1,45** c.c. par heure et kgr. ; poids spéc. : **1,0126.**
17 h. 25', » » 25 c.c. » = **8,07** c.c. » » » **1,014.**
18 h. 25', » » 18 c.c. » = **5,5** c.c. » » » **1,106.**

Effet diurétique :

Pour la 1re heure : **470** % de la normale.
» 2e » **218** % »
» 3e » **116** % »

Pour la facilité de la comparaison, je réunis les résultats dans le tableau ci-joint :

Effet diurétique de		
la diurétine	la préparation au nitrate	l'agurine
1° 204,6 % 270 % 379 % } moyenne : **284** %	1° 485 % 1197 % 944 % } moyenne : **875** %	1° 424 % 232 % } moyenne : **328** %
2° 272 % 448 % 390 % } moyenne : **370** %	2° 421 % 262 % 191 % } moyenne : **291** %	2° 694 % 694 % 483 % } moyenne : **623** %
3° 185,4 % 14,33 % 185,4 % 72 % } moyen. : **114,28** %	3° 488 % 609 % 205 % } moyenne : **434** %	3° 604 % 565 % 309,2 % } moyen. : **492,7** %
4° 527 % 439 % 169 % } moyenne : **378,4** %	4° 571 % 421 % 272 % } moyenne : **421,3** %	4° 1070 % 387 % 873 % } moyen. : **776,6** %
5° 213,2 % 287,5 % 147,4 % } moyenne : **216** %	5° 435 % 569 % 612 % } moyenne : **538,6** %	5° 470 % 218 % 116 % } moyenne : **268** %
6° 693 % 571 % 530 % } moyenne : **598** %		
7° 148 % 569 % 273 % } moyenne : **330** %		
Moyenne des 7 essais : **327** %	Moyenne des 5 essais : **510** %	Moyenne des 5 essais : **497,8** %

Ces chiffres n'ont guère besoin de commentaires. Il est bien évident que l'effet diurétique de mes préparations est tout aussi puissant que celui de la diurétine; nous pouvons même dire *plus puissant*. La valeur de la préparation au nitrate et de l'agurine, en ce qui concerne la diurèse, est égale.

Il n'y a d'ailleurs rien d'étonnant à cette supériorité de mes sels doubles, si l'on se rémémore les divers avantages qu'ils ont sur la diurétine, aussi bien au point de vue de l'action sur le cœur et la circulation, que de l'influence sur les muqueuses digestives et l'épithélium rénal.

Pour achever cette étude, j'ai fait encore quelques essais de diurèse sur l'homme :

1er Essai. Sur moi-même.

Sécrétion normale d'urine :

Le 20 mars de 18 h. à 7 h. du matin du lendemain 21 : 865 c.c., de densité 1,0154.

Le 21 de 7 h. du matin à 10 h. : 240 c.c., de densité 1,0126.

De 10 h. à 15 h. : 400 c.c., de densité 1,0163.

De 15 h. à 18 h. : 265 c.c., de densité 1,0184.

Ingestion d'un gramme d'agurine à 18 h. ; à 21 h. encore 1 gramme.

Quantité d'urine à 22 h., 790 c.c., densité 1,0038.

De 22 h. à 7 h. du lendemain, 22 mars, 575 c.c. d'urine, de densité 1,0185 ; en additionnant ces deux dernières quantités, nous obtenons pour le soir et la nuit : 1365 c.c., de densité 1,0099.

Le 22, à 9 h. 30', il fut encore pris 1 gr. d'agurine.

De 7 h. à 10 h. 30', 170 c.c, d'urine, de densité 1,0195.

De 10 h. 30' à 15 h., 255 c.c.; densité 1,018. A ce moment, nouvelle ingestion d'un gramme d'agurine.

De 15 à 18 h., 160 c.c., de densité 1,0196.

De 18 à 22 h., 190 c.c., de densité 1,02.

De 22 h. à 7 h. du lendemain, 23 mars, 260 c.c. de densité 1,024.

De 7 à 12 h., 150 c.c., de densité 1,022.

De 12 à 18 h., 130 c.c., de densité 1,0252.

De 18 à 22 h., 200 c.c., de densité 1,0163.

De 22 à 7 h. du lendemain, 24 mars, 670 c.c., de densité 1,0144.

De 7 à 12 h., 275 c.c., de densité 0,0183.

De 12 à 15 h., 215 c.c., de densité 0,0124.

De 15 à 18 h., 230 c.c., de densité 0,0173.

Il y a eu évidemment un effet diurétique : la quantité normale d'urine de 18 heures le 20, à 7 heures le 21, avait été de **865** c.c. et d'une densité de 1,0154.

Après l'ingestion des deux premiers grammes d'agurine, cette quantité d'urine s'éleva à **1365** c.c. d'une densité de **1,0099**, soit un excès de **500** c.c. De plus, la faible densité de l'urine, le soir où ces deux grammes d'agurine furent pris, **1,0038**, montre bien que l'on a à faire à de la diurèse. Mais ce n'est là qu'*une diurèse relative;* c'est une accélération de l'élimination de la quantité « mobile » d'eau en réserve dans l'économie ; ce qui le prouve, c'est qu'après l'effet diurétique que nous venons d'observer, la sécrétion urinaire *se restreint*, de sorte que la somme d'urine, émise en 24 heures, ne se trouve augmentée, après l'ingestion de l'agurine, que d'une façon tout-à-fait insignifiante.

Cette quantité journalière d'urine avait été normalement du 20 mars à 18 heures au 21 à 18 heures, de **1770** c.c. ; elle fut sous l'influence de l'agurine, du 21 à 18 heures au 22 à 18 heures, de **1950** c.c., soit augmentée de **180** c.c. seulement.

Ce fait confirme ce que j'ai avancé dans mes observations générales sur la diurèse, c'est-à-dire que les diurétiques chez l'individu sain ne peuvent augmenter *la quantité absolue des urines*, parce qu'ils n'ont d'action

que sur la partie « mobile » de liquide de l'organisme. Une fois cette quantité mobile éliminée, le diurétique n'a plus d'effet; *l'urine se concentre, son volume diminue,* comme les chiffres de cet essai le montrent clairement; même de nouvelles prises de médicament n'ont plus d'influence; l'économie *ne cède rien* de la partie « fixe » de liquide qu'elle contient — au contraire, elle restreint l'activité de la glande rénale, elle se défend contre toute perte d'eau et cherche à rétablir la réserve de liquide qu'elle avait normalement. Aussi voyons-nous dans cette expérience, que ce n'est que le 21 au soir, et surtout le 24, que la sécrétion urinaire diminuée après la diurèse, revient à sa densité antérieure et à son volume normal.

2° Si la réserve de liquide de l'organisme est faible, le diurétique n'aura que peu d'effet; il n'y aura pas même de diurèse relative.

L'essai suivant en est la preuve.

Sécrétion normale : de 18 h. le 28 mars à 22 h., émission de 490 c.c. d'urine de densité 1,0076.

Du 28 à 22 h. au 29 mars à 7 h. : 460 c.c., de densité 1,0176.

De 7 à 12 h., 360 c.c., de densité 1,0196.

De 12 à 15 h., 215 c.c., de densité 1,0123.

De 15 à 18 h., 195 c.c., de densité 1,0215.

A 18 h., ingestion de 1 gr. d'agurine.

A 22 h., ingestion d'encore 1 gr.

De 18 h. à 22 h., 750 c.c. d'urine, de densité 1,0074; soit un excès de **260** c.c. seulement sur la veille.

De 22 h. au lendemain 30 mars à 7 h., 450 c.c., de densité 1,017.

Ici il n'y a déjà plus d'action.

De 7 à 12 h., 240 c.c., de densité 1,02, soit 120 c.c. de moins que normalement au même temps et dans le même intervalle.

De 12 à 15 h., 150 c.c., de densité 1,0223, soit 65 c.c. de moins que normalement dans les mêmes conditions de temps.

De 15 à 18 h., 210 c.c., de densité 1,023., quantité de nouveau normale.

Nous avons donc eu dans les 24 heures d'observation normale : **1720** c.c. d'urine; dans les 24 heures sous l'influence de l'agurine : **1800** c.c., soit un excès de **80** c.c.

Donc pas de diurèse absolue, et seulement une très faible diurèse relative.

Il est bien clair que l'homme sain n'est pas un sujet convenable pour l'expérimentation des diurétiques agissant par excitation directe du rein, comme la théobromine.

M^r le professeur DRESER a fait des essais sur lui-même avec la diurétine, avec des résultats absolument analogues.

3e Essai. Sur un sujet de 15 ans, ayant l'habitude de prendre de grandes quantités d'eau à ses repas.

Quantité normale d'urine, lors d'un premier jour d'observation : 595 c.c., en 635 minutes, soit **0,95** c.c. par minute, densité 1,012; lors d'un second jour : 599 c.c. en 370 minutes, soit **1,62** c.c. par minute, densité 1,0061.

Quantité d'urine sous l'influence de 2 gr. d'agurine : 461 c.c. en 155 minutes, soit **2,98** c.c. par minute, densité **0,0054**.

Ici l'effet diurétique est manifeste également, puisque le volume d'urine par minute monte de **1,62** à **2,98** c.c.

Dans l'essai que j'ai fait sur moi-même, la quantité d'urine par minute ne s'était élevée de **1,1** c.c. à **1,75**.

A la suite de ces expériences qui ont démontré l'influence de la théobromine, soit sous forme de diurétine, soit sous celle de l'agurine et de préparation du nitrate, sur le volume de la sécrétion rénale, je dois ajouter quelques mots au sujet des variations que subit la constitution de l'urine après l'administration de ces produits.

Comme la caféine, la théobromine par elle-même augmente, en même temps que le volume, la quantité de substances fixes de l'urine : urée, phosphates, chlorure de sodium, etc. Seulement cette augmentation des substances fixes ne marche pas de pair avec celle du volume, de sorte qu'en général la densité de l'urine s'abaisse, ainsi que l'on peut s'en rendre compte dans la plupart des essais que j'ai relatés.

Pour la diurétine, qui contient du salicylate de sodium, cette augmentation des matières fixes est plus intense que pour la théobromine seule, parce que le salicylate a par lui-même une action accélérante sur les phénomènes de nutrition intime. Il en est de même pour l'agurine; l'acétate de sodium se transformant en carbonate a sur les échanges nutrifs de l'économie, les mêmes effets accélérants que les alcalins, et amène par suite une augmentation de l'urée, du chlorure de sodium etc. dans les urines.

Il est évident que chez les sujets malades, chez lesquels la circulation sanguine et l'élimination rénale sont insuffisantes, ce phénomène doit être encore plus marqué; en effet, par suite des circonstances défavorables dans lesquelles leur organisme se trouve, il doit y avoir accumulation de déchets de la nutrition dans l'économie; le diurétique, en amenant une circulation plus active de la lymphe, doit avoir pour action finale, simultanément avec une augmentation de l'excrétion de liquide, une augmentation absolue des matières fixes de l'urine.

Jusqu'ici, je n'ai pas encore parlé dans cette publication, de certaines observations cliniques qui ont été faites avec la théobromine, et que je tiens à rapporter ici, pour les mettre en accord avec mes expériences. Il s'agit de l'action de la théobromine sur le cœur et la circulation. Alors que nous

avons vu que la théobromine a pour effet d'abaisser la pression artérielle et d'accélérer le pouls, certains auteurs dans leurs relations cliniques, assurent que cette substance est sans action aucune sur le cœur et sur la pression sanguine (GRAM; KONINDJY POMERANTZ, Bullet. de thérapeut. LIX, p. 112, 1890; KORITSCHONER, Wiener klin. Woch., 1890, p. 733 ff.); d'autres ont trouvé que le pouls se ralentit, se renforce, que la pression augmente (HOFFMANN, Arch. f. exp. Path. und Pharm. XXVIII, p. 1, 1890; GEISLER, Wratsch. 1890, N° 46, 47, Berl. klin. Woch., 1891, N° 15, 17). HOFFMANN alla même jusqu'à soutenir que l'action diurétique de la théobromine est due à cette action renforçante, tonique sur le cœur.

Il est certain qu'il y a là erreur, non pas d'observation, mais de raisonnement.

Il faut tenir compte en effet de ce fait que, chez les sujets malades, à circulation entravée, la théobromine en débarrassant, par la diurèse, l'organisme de l'accumulation pathologique de liquide qui forme un des symptômes les plus graves des affections où ce médicament est indiqué, soulage par ce fait même la circulation, et le cœur, ayant moins de résistance à vaincre, bat plus fortement, la pression par conséquent s'améliore.

Ces phénomènes observés par HOFFMANN sont donc secondaires et non primaires; ils sont la résultante de l'action de la théobromine, et non pas la cause de cette action.

Il me reste, pour terminer, à résumer les points principaux de ce travail:

1° La théobromine est de tous les dérivés xanthiques, celui qui a le plus de valeur comme diurétique; c'est dans ce genre un des médicaments les plus précieux que nous possédions.

2° La diurétine, dans ses solutions aqueuses, *n'est pas un sel double;* l'adjonction du salicylate de sodium à la théobromine sodée ne présente, *au point de vue chimique pur, aucune utilité.*

3° La théobromine sodée *seule* est *trop caustique* pour pouvoir être employé; l'adjonction d'un sel à ce produit *diminue sa causticité*; plus l'acide de ce sel est fort, plus ce sel a de la tendance à dissocier dans ses solutions aqueuses, moins il est capable d'atténuer cette causticité. Pour cette raison, l'adjonction du salicylate de soude, comme c'est le cas dans la diurétine, *est peu avantageuse.* Par contre, *on arrive à atténuer fortement la causticité* de la théobromine sodée en lui alliant *l'acétate de soude,* comme dans ma préparation d'agurine.

L'agurine est donc sous ce rapport bien supérieure à la diurétine.

4° *Le salicylate de sodium* n'est pas indiqué, il est même en général *contre-indiqué* dans les affections où l'on utilise la théobromine : il est

irritant pour les muqueuses et très toxique. Il a une influence nocive sur la respiration, sur le cœur, sur la circulation, sur le rein et sur le système nerveux. Le benzoate de soude est moins nuisible, mais il ne présente pas plus d'utilité. Ces deux sels n'ont que des propriétés diurétiques très contestées, et ne pouvant entrer en considération en présence des nombreux et grands défauts qu'ils présentent.

L'acétate de sodium n'est pas irritant, n'est pas toxique; il se transforme entièrement en carbonate de sodium dans l'organisme; il est sans influence marquée sur le cœur, la respiration et le rein. Il a des propriétés diurétiques, faibles il est vrai, surtout aux petites doses dont il s'agit ici, mais incontestées et pouvant seconder l'action de la théobromine. Quant au nitrate de sodium, il est pour ainsi dire tout aussi inoffensif et est diurétique également.

L'adjonction de ces deux sels (de l'acétate de sodium surtout) à la théobromine sodée est donc non seulement beaucoup plus logique et plus opportune que celle du salicylate, comme dans la diurétine, mais présente encore de réels et sérieux avantages.

5° Les produits que l'on obtient ainsi, en alliant l'acétate et le nitrate de sodium à la théobromine sodée, sont, au point de vue chimique, analogues à la diurétine : pas plus que celle-ci, ce ne sont, en solution, des sels doubles; mais il est fort probable que l'agurine est, à l'état cristallin, un sel double à la manière des aluns. *De ces deux préparations nouvelles, l'agurine est celle qui doit avoir la préférence, parce qu'ainsi que nous l'avons vu, elle est de loin la moins irritante pour les muqueuses avec lesquelles elle entre en contact.*

6° Au point de vue pharmacologique, l'agurine et la préparation au nitrate, n'ont pas les défauts de la diurétine non plus; car les effets secondaires fâcheux que l'on observe à la suite de l'emploi de cette dernière substance, sont évidemment dus en majeure partie au salicylate de sodium seul. Ce sel aromatique exagère non seulement l'action débilitante de la théobromine sur le cœur et la pression artérielle, mais y ajoute encore toute la série d'effets nocifs qui lui sont propres.

7° L'effet diurétique de mes « sels doubles » est égal, si pas supérieur à celui de la diurétine.

8° Enfin, grâce à ces diverses circonstances favorables, et au fait également que mes produits ont une teneur en théobromine de 10 % plus élevée, il n'est pas douteux que nous pourrons les administrer à des doses inférieures à celles auxquelles on doit avoir recours avec la diurétine.

En conséquence, je préconise l'agurine comme étant la préparation de théobromine la plus inoffensive, la plus avantageuse et la plus rationnelle.

Monsieur le professeur DESTRÉE a eu l'obligeance de faire avec l'agurine une série d'essais cliniques qui ont pleinement confirmé mes conclusions.

Qu'il me soit permis de lui adresser ici mes plus sincères remercîments, ainsi qu'à Mr le professeur DRESER, qui n'a cessé, pendant le cours de ce travail, de me prêter son aide éclairée et bienveillante.

Quelques mots encore au sujet de la manière d'administrer l'agurine.

Cette préparation, comme la diurétine, doit être conservée avec le plus grand soin à l'abri de l'humidité et de l'acide carbonique de l'air.

On peut la prescrire en potion, c'est le mode le plus rationnel; la résorption est ainsi la plus rapide et la plus certaine; mais on doit éviter de lui adjoindre des substances acides, ou du sirop trop concentré, afin de ne pas précipiter la théobromine de sa solution.

Le meilleur correctif pour le goût amer, est, comme pour la diurétine, l'eau de menthe.

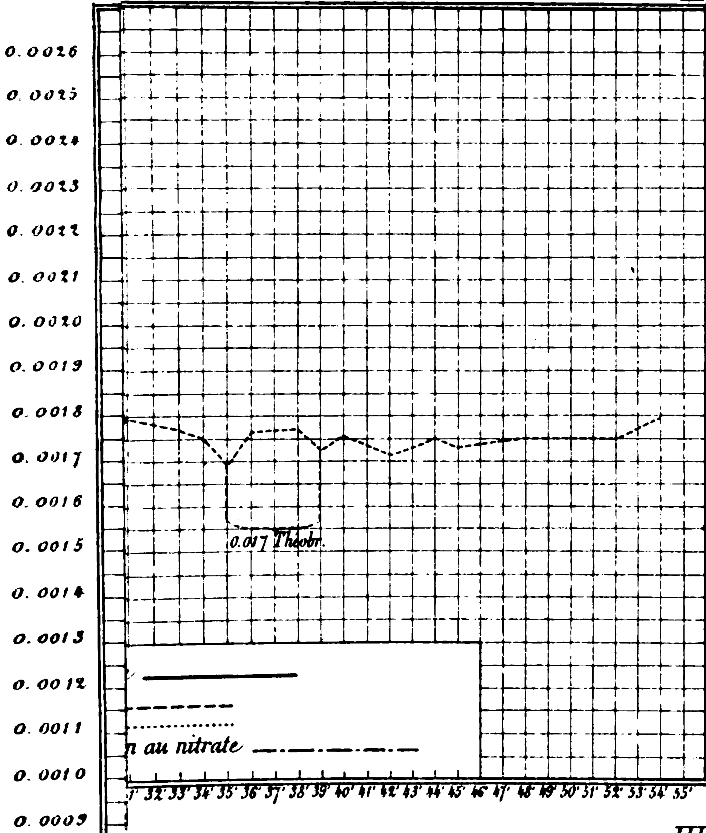
Une façon très pratique d'administrer le produit, est de le donner en cachets bien clos, comme l'a fait Mr le professeur DESTRÉE. Seulement, il est prudent de ne pas prescrire les cachets pour plus de 24 heures, de crainte que la substance ne s'altère. Enfin, le plus facile encore est de faire prendre l'agurine en tablettes. J'ai fait préparer deux sortes de tablettes de mon produit : les unes, simples comprimés de la substance même, se dissolvent dans l'eau d'une façon limpide, mais relativement lente, à cause de l'état compact de la masse; les autres, formées avec de l'amidon et de la gomme adragante (ou du talc), gonflent immédiatement au contact de l'eau et se dissolvent rapidemment, toutefois la solution en est trouble à cause des grains d'amidon ou des particules de talc qui y nagent.

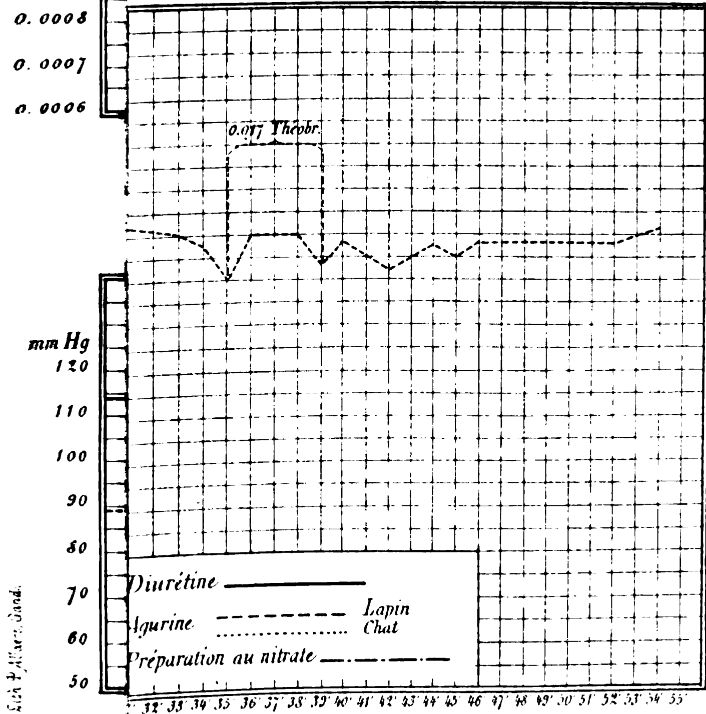
Cette dernière forme de tablette est donc préférable si l'on ne veut pas administrer l'agurine en solution; il est certain, en effet, qu'elle se dissoudra dans l'estomac d'une façon très rapide, et que la résorption du médicament ne subira aucun retard.

La seconde forme peut servir à préparer extemporanément des solutions d'agurine, si l'on trouve préférable ou nécessaire de la faire prendre ainsi (dans le cas où les patients auraient par exemple de la difficulté à avaler les tablettes).

Enfin, les tablettes sont recouvertes d'une matière appropriée, pour leur enlever le goût amer et pour assurer leur conservation.

Elberfeld, 4 février 1901.


II.
0.0026
0.0025
0.0024
0.0023
0.0022
0.0021
0.0020
0.0019
0.0018
0.0017
0.0016
0.0015
0.0014
0.0013
0.0012
0.0011
0.0010
0.0009
0.0008
0.0007
0.0006
0.017 Théobr.
n au nitrate
32' 33' 34' 35' 36' 37' 38' 39' 40' 41' 42' 43' 44' 45' 46' 47' 48' 49' 50' 51' 52' 53' 54' 55'


III.
0.017 Théobr.
mm Hg
120
110
100
90
80
70
60
50
Diurétine
Agurine
Lapin
Chat
Préparation au nitrate
32' 33' 34' 35' 36' 37' 38' 39' 40' 41' 42' 43' 44' 45' 46' 47' 48' 49' 50' 51' 52' 53' 54' 55'

Arch. in

u

n
c

g

r
d
d

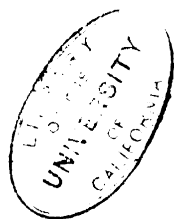
l

c
i
c
p
n
d
d
l
l
à

a
d
r

s
I
(

l



Laboratorio di Materia Medica e Farmacologia sperimentale della R. Università di Torino (Diretto dal Prof. Piero Giacosa).

Sull'azione respiratoria della morfina e di alcuni suoi succedanei

Ricerche di farmacologia e terapia sperimentale

PER

Antonio BRINDA

Laureando in Medicina. Assistente volontario all' Istituto.

Dal giorno in cui la morfina cominciò ad usarsi in terapia, si può affermare che non vi fu affezione dolorosa in cui non si sia sperimentata. Occorre dire però che la sua azione venne studiata più sotto l'aspetto terapeutico che farmacologico, più in base ai risultati osservati nell'uomo che a quelli di esperimenti provocati negli animali : oggi ancòra gli autori non sono perfettamente d'accordo in ogni punto.

D'altra parte, conosciutisi gli inconvenienti della morfina, il pericolo di un'abitudine al rimedio, si è cercato di trovare — partendo da essa — dei corpi i quali ne avessero le proprietà curative senza possederne l'azione tossica. Messi su questa strada, i chimici hanno ottenuto diversi corpi : sostituendo nella morfina uno degli ossidrili coi gruppi alchilici, vennero fuori la codeina o metilmorfina e la dionina o etilmorfina; sostituendo entrambi gli ossidrili col gruppo acetile, si ebbe la eroina o diacetilmorfina; finalmente introducendovi il radicale benzoico e formandone il sale cloridrico si ebbe la peronina. Questi quattro corpi si disputano oggidì il primato sulla morfina, ed assai intenso è il lavoro attorno ad essi, nè possibile per ora l'accordo : una copiosa letteratura si è andata formando sull'argomento, senza però che sia ben delineato il meccanismo d'azione

di ciascuna di queste sostanze. E siccome specialmente nelle affezioni dell'apparato respiratorio esse trovano la loro indicazione, così m'è parso non inutile il cercare di dilucidar alquanto la questione e di mettere in chiaro l'azione intima di questi derivati della morfina. Perciò, prendendo punto di partenza dalla morfina stessa, ho tentato uno studio di confronto fra le varie sostanze, unicamente dal punto di vista della loro influenza sull'apparato respiratorio.

Le esperienze furono condotte in due modi diversi. Per avere un'idea preventiva dell'azione di questi corpi sul respiro, ho sempre fatto una serie di esperienze preliminari con un apparecchio semplice e che si dimostrò nello stesso tempo molto sensibile. Il cane su cui volevo sperimentare veniva posto in una grande campana rettangolare, a pareti di vetro, della capacità di circa 50 litri; questa, aperta solo alla parte inferiore, entrava a tenuta d'aria in apposita scanalatura di un piano di ferro, e portava inoltre due tubi portagomme a due pareti opposte, uno in basso per la ventilazione, uno in alto per essere congiunto alla leva scrivente. Della campana assicuravo la tenuta perfetta versando dell'acqua nella scanalatura del piano di ferro; i vetri erano fissati all'intelaiatura di ferro mediante mastice rivestito d'une vernice impermeabile. Al tubo superiore univo per mezzo di un raccordo di gomma un tubo a T, di cui la branca verticale veniva congiunta per altro raccordo di gomma con una pompa d'acqua, che — nel mentre aspirava l'aria contenuta nell'interno — produceva un richiamo continuo di aria nuova dall'esterno per il tubo inferiore. Così si aveva nella campana una ventilazione continua, che potevo rendere più o meno attiva aumentando o diminuendo il getto d'acqua; e con tale metodo ho potuto mantenere par parecchie ore un cane nella campana senza che in esso si manifestasse dispnea da penuria di ossigeno. Per eliminare poi anche il dubbio che nella campana si potesse accumulare dell'anidride carbonica, e per scacciarla anche quando vi si fosse formata pure in minime traccie, ad ogni 10 minuti rinnovavo completamente l'aria della campana mediante una robusta pompa a mano capace in pochi colpi di spostare quasi tutta l'aria e di ricambiarla per intero. L'apparecchio si è dimostrato sempre molto sensibile, e in tutta la lunga serie di esperienze fatta ho potuto convincermi che esso funziona come un vero pletismografo, registrando fedelmente anche le minime variazioni nel volume d'aria contenuto. Per quanto riguarda il modo di scrivere il respiro, la branca orizzontale del tubo a T sopradetto veniva posta in comunicazione per un tubo di gomma a pressione con un timpano di MAREY, di cui la leva scriveva sopra un cilindro affumicato del comune motore di BALTZER. Al momento di scrivere,

chiudevo la comunicazione colla pompa e coll'aria esterna, per modo che le vibrazioni dell'aria contenuta si trasmettevano integralmente all'apparecchio scrivente. Ho usato sempre la precauzione di non scrivere per un tempo maggiore di 3—4 minuti per non obbligare l'animale a respirar lungamente in uno spazio chiuso.

Le esperienze fatte con questo sistema mi paiono assai concludenti, perchè l'animale si trovava nella campana in condizioni perfettamente normali, libero di muoversi e di cambiar posizione, senza tutti gli inconvenienti che di necessità accompagnano sempre un'esperienza fatta fissando l'animale sul tavolo d'operazione.

Con questo metodo però non potevo studiare se non il numero e l'ampiezza delle excursioni respiratorie. Io mi ero proposto inoltre di vedere come si comportasse la ventilazione polmonare in seguito all'iniezione di sali di morfina e dei suoi succedanei; quindi per ciascuna delle sostanze esaminate ho fatto un' altra serie di esperienze su animali tracheotomizzati, in modo da poter verificare direttamente la quantità d'aria inspirata. Ecco come disponevo l'esperienza. Il cane, legato sul tavolo d'operazione, veniva tracheotomizzato, e la cannula tracheale era messa in comunicazione per mezzo di un raccordo di gomma con un tubo di vetro a **Y**, di cui le due branche divergenti erano per due tubi di gomma in connessione con due valvole di MÜLLER ad acqua, una inspiratoria, l'altra espiratoria : la valvola inspiratoria comunicava poi con un contatore accuratamente verificato al principio dell'esperienza. Così l'animale era obbligato a prender l'aria attraverso al contatore e sul quadrante di questo si registravano direttamente i litri d'aria inspirata. Per potere poi nel medesimo tempo conoscere il numero e l'ampiezza degli atti respiratorii, interponevo nel tubo di raccordo fra la trachea e la valvola espiratoria un tubo di vetro che, attraverso ad una sua parete laterale, lasciava passare un altro tubo più piccolo ripiegantesi dentro e fuori ad angolo quasi retto : unendo questo secondo tubo con un altro di gomma ad un timpano di MAREY io potevo scrivere direttamente sopra un cilindro affumicato tutti gli atti respiratorii, perchè i movimenti dell'aria espirata dovevano di necessità trasmettersi all'aria contenuta nel secondo tubo e quindi alla leva del timpano. Tutto il sistema di tubi era poi combinato in modo che non vi fosse disuguaglianza di calibro fra i diversi pezzi, in guisa da ridurre al minimo possibile le resistenze e gli attriti.

Nell'intraprendere queste esperienze non ebbi solo in mira di studiare l'azione farmacologica della morfina e dei suoi succedanei nuovamente proposti; ma intesi altresì di eseguire una serie di ricerche di terapia

sperimentale, per conoscere il modo con cui agiscono sugli organismi ammalati. Quindi è che, studiando l'azione respiratoria di questi corpi, ho per ciascuno di essi diviso le ricerche in due serie, l'una su animali integri, l'altra su animali cui producevo una limitazione dell'area respiratoria. A ció riuscivo agevolmente iniettando nel cavo pleurico una certa quantità d'un liquido formato da una soluzione di gomma con aggiunta di albume d'uovo fino ad aversi la densità normale dell'essudato pleurico che, secondo Eichorst, varia da 1009 a 1015. La quantità del liquido iniettato variava secondo gli animali; in genere l'unico criterio su cui mi fondava era l'area di ottusità, sempre rilevante, accompagnata al di sopra da un timpanismo ben definito. Accertavo poi sempre l'esistenza del versamento pleurico facendo ad ogni volta l'autopsia dell'animale pleuritico per accertarmi che il liquido non fosse stato eliminato dai naturali emuntorii dell'organismo. In un caso poi ho potuto ottenere una vera pneumonite lobare, come poi riferirò nel corso del lavoro.

Dirò anzitutto delle esperienze fatte colla morfina, che — per essere il più antico di questi corpi adoperati per calmare gli stati irritativi dell'apparecchio respiratorio — non cessa però di esser sempre il più usato e quello che risponde praticamente a quasi tutte le necessità cui il medico deve provvedere.

Morfina.

WINTERNITZ, in un recente lavoro sull'azione di alcuni derivati della morfina sul respiro dell'uomo (1) afferma come oggidì non esista più alcuna divergenza di opinioni sull'azione della morfina stessa. Egli mette come cardine fondamentale del suo lavoro la premessa che la morfina negli animali abolisce l'eccitabilità del centro del respiro, donde allungamento dell'atto inspiratorio e diminuzione della sua ampiezza. LÖWY (2) arriva alle stesse conclusioni per l'uomo. Ora io, colpito dai risultati ottenuti nel corso delle esperienze coi succedanei della morfina, volli vedere come e per che dosi si ottenessero in pratica, questi risultati.

Ho usato il sale cloridrico, che è il più universalmente usufruito in terapia, e ne ho voluto saggiare le varie dosi per vedere fino a qual limite si possa parlare di azione utile nell'impiego di questa sostanza ed in quali condizioni.

È noto che per il cane si può ancòra considerare dose terapeutica

(1) WINTERNITZ H. — Ueber die Wirkung einiger Morphinderivate auf die Athmung des Menschen — Thérapeutische Monatshefte, 1899. September, pag. 469.

(2) LÖWY. Therapeutische Monatshefte. 1899.

quella di 1 centigr. per kgr. iniettata di colpo sotte la cute. Questa dose si trova indicata nei trattati di tecnica fisiologica e si adopera di frequente per ottenere una rapida e sicura anestesia in quegli animali che devono essere assogettati ad atti operativi, senza che influenzi il decorso postoperatorio.

Le esperienze fatte sui *cani normali* sono in buon numero, e — senza riportarle quì tutte — mi limiterò ad accennarne alcuna, facendo delle altre conoscere solo i risultati.

Serie II. — Esp. 12ª. — Cane del peso di kgr. 10.

Tracheotomizzato e disposto sul tavolo d'esperienza, come sopra ho detto, ebbi i dati seguenti :

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numéro dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	19	mm. 10	Litri 3,99
		—	—	—
0,13	Dopo iniez. milligr. 1 morfina per kgr.	11	» 15	» 1,55
1,3	—	11	» 13	» 2,31
2,3	—	14	» 15	» 3,18
		12	» 14	» 2,47

Non ho riportato qui che alcune delle cifre ottenute nella lunga esperienza, scelte però in modo da mettere bene in evidenza l'azione della morfina sul respiro. — Da questa esperienza si vede che, a dose così piccola come è per il cane 1 mgr. per kgr. la morfina diminuisce il numero dei respiri e la ventilazione polmonare, aumenta invece l'altezza del respiro medesimo : questa azione si esplica subito dopo l'iniezione e si conserva ancòra due ore dopo di essa. Noto che il cane in esperimento era assai tranquillo già fin del principio.

Serie I. — Esp. 6ª. — Cane barbone, kgr. 6,650.

Viene introdotto nella campana dove mostra però subito di stare malvolontieri, e si agita e geme, tanto che si riesce con stento a scrivere due pezzi di tracciato normale.

Ore dopo l'iniezione	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.
—	Normale	17	mm. 2,3
		—	—
0,8	Dopo iniez. milligr. 3 morfina per kgr.	15	» 0,3
1,10	—	8	» 0,75
2	—	14	» 1,9
2,55	—	18	» 2,3
		13	» 1,48

Adunque per dosi di 3 mmgr. di cloridrato di morfina per kgr. di peso, diminuisce ancòra il numero dei respiri, ma diminuisce pure in sul principio l'ampiezza dell'onda respiratoria che però, allo fine dell'esperienza, è di nuovo pari all'ampiezza primitiva. Un altro cane, in identiche condizioni ed iniettato colte stesse dosi, mi diede uguali risultati.

Serie II. — Esp. 13a. — Cane volpino, kgr. 6.

Ore dopo l'iniez.	Condizione del tracciato	Numerp dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	16	mm. 5	Litri 5.95
0,10	Dopo iniez. millsgr. 5 morfina per kgr.	11	» 4,5	» 1,92
1	—	6	» 8	» 1,38
1,43	—	7	» 11	» 1,39
		8	» 8	» 1,56

Uguali dati ricavai in un altro animale nelle identiche condizioni; mmgr. 5 di morfina per kgr. di peso danno una diminuzione nel numero dei respiri e nella ventilazione polmonare, un aumento nell'altezza degli atti respiratorii.

Se poi andiamo a dosi superiori, allora si hanno risultati alquanto diversi.

Serie I. — Esp. 8a. — Cane bastardo, kgr. 7,100.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei resplri in 1'	Altezza in mm.
—	Normale	9	mm. 3,48
0,12	Dopo iniez. milligr. 9 morfina per kgr.	12	» 1,45
1,22	—	16	» 3,7
2,2	—	12	» 3,9
2,52	—	13	» 4
		13	» 3,25

Dal che si vede come le dosi alquanto elevate di morfina agiscano in modo affatto opposto alle dosi minori, imperocchè aumentano il numero dei respiri e diminuiscono l'ampiezza delle escursioni respiratorie. Forse siamo quì di fronte all'azione secondaria della morfina sui centri spinali, azione eccitante sul midollo, la sola che si manifesti negli animali inferiori, mentre negli animali superiori — e quindi anche nel cane — la morfina in primo tempo ha azione deprimente sul sistema cerebrale.

Producendo nei cani un esteso *versamento pleurico* le cose cambiano alquanto per ciò che riguarda la morfina. Assai dimostrative sono le due

esperienze che riporto in seguito, perchè gli animali adoperati erano perfettamente tranquilli, null'altro presentando che la dispnea indotta dal versamento pleurico.

Serie II. — Esp. 16ª. — Cane bastardo, kgr. 11,200.

Si è prodotta al cane una pleurite destra; oltre a ciò l'animale presenta un gozzo parenchimatoso assai imponente, che abbraccia ancòra buona parte della trachea sotto il punto d'ingresso della cannula; la trachea è deviata a destra, compressa a fodero di sciabola; esiste un cospicuo aneurisma della carotide primitiva sinistra, la quale è compresa nel tumore parenchimatoso.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	29	mm. 3,2	Litri 5,23
		—	—	—
0,6	Dopo iniez. milligr. 1 morfina per kgr.	17	» 3,7	» 2,56
0,36	—	21	» 3,5	» 3,31
1,6	—	22	» 3,2	» 3,90
1.36	—	23	» 2,9	» 3,85
2,6	—	29	» 2,9	» 4,73
2,13	—	28	» 4,5	» 4,62
		23	» 3,9	» 3,83

Un milligramma di morfina per kgr. di peso diminuisce il numero dei respiri, calmando la dispnea indotta dal versamento pleurico; diminuisce in conseguenza la quantità d'aria introdotta nei polmoni; aumenta invece l'ampiezza delle escursioni respiratorie, che si fanno pertanto più rare ma più profonde.

Serie II. — Esp. 17ª. — Cane volpino, kgr. 6,400.

Anche questo ha un versamento pleurico destro artificiale e se ne sta tranquillo ed immobile sul tavalo d'operazione sino al termine dell'esperienza, null'altro presentando che la dispnea.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	30	mm. 1,9	Litri 2,29
		—	—	—
0,12	Dopo iniez. milligr. 5 morfina per kgr.	33	» 0,9	» 1,62
0,32	—	28	» 1	» 1,71
1,2	—	30	» 0,5	» 2,54
1,38	—	31	» 0,7	» 2,52
		30	» 0,77	» 2,14

Le alte dosi di cloridrato di morfina non riescono più, per una parte, a calmare la dispnea, ché anzi stando a questa esperienza tenderebbero

ad aumentarla, e per altra parte diminuiscono considerevolmente l'ampiezza del respiro e la ventilazione polmonare. Parmi adunque si possa concludere che nei casi di versamento pleurico si ha un vero effetto utile dalle piccole dosi di morfina; questo cessa coll'aumentare delle dosi medesime.

Oltrecchè la dispnea da versamento pleurico, la morfina in dosi opportune serve pure a calmare la violenta *dispnea da sovraeccitazione nervosa* che interviene qualche volta in alcuni animali molto irrequieti quando vengano legati al tavolo d'operazione.

In una esperienza si aveva un cane estremamente dispnoico, un respiro a scosse pronunciatissimo, affannoso e violento in modo da non potersi scrivere, nè registrare la ventilazione polmonare perchè si svuotavano continuamente le valvole. Questo respiro durava da ore 2,15 inalterato quando si somministró al cane per via ipodermica 1 mmgr. di cloridrato di morfina per kgr. di peso. L'effetto fu quasi immediato; la dispnea si calmó; il respiro divenne regolare per ritmo e frequenza; il cuore, che prima si dimostrava stanco, tornò valido, con pulsazioni regolari : mentre prima non si potevano enumerare le escursioni respiratorie, dopo l'iniezione si poterono constatare discese a 14—15 al minuto.

Da quanto ho riferito sulla morfina, appare chiaramente che la sua azione si esplica assai più sugli animali ammalati che non sui sani. Ciò del resto non sorprende, essendo legge comune in farmacologia che è più facile ricondurre al normale una funzione alterata che non alterarla quando essa è normale.

Parmi dalle mie esperienze di poter concludere alquanto diversamente da ciò che afferma WINTERNITZ nel lavoro citato, e con lui LEICHTENSTERN, BOEK, BAUER, FILEHNE(1). L'eccitabilità del centro respiratorio può essere alquanto depressa dall'uso di dosi terapeutiche di morfina; ma ciò non si traduce in un'azione dannosa perchè, insieme colla diminuzione del numero dei respiri, si ha un aumento dell'ampiezza dei medesimi, e ciò tanto negli animali normali quanto nei versamenti pleurici gravi. La ventilazione polmonare diminuisce perchè in stretto rapporto col numero dei respiri più che con la loro ampiezza, fatto questo che ho potuto constatare in tutta questa lunga serie di esperienze. Però questa diminuzione non è mai così spiccata da non aversi ancòra un effetto utile per lo scambio respiratorio.

(1) Citati nel lavoro di WINTERNITZ. Therapeutische Monatshefte, 1899.

Peronina.

Assai poco studiata è la peronina dal punto di vista della sua azione sul respiro. Solo IMPENS(1) se ne è occupato di proposito senza concludere però altro se non che essa ha pochissima influenza sulla funzione respiratoria. Era quindi interessante il vedere di delinearne bene il quadro farmacologico. Della peronina non si usano per ora sali, e non so che se ne siano preparati; adoperai quindi l'alcaloide tal quale, malgrado la sua poca solubilità che obliga a ricorrere a soluzioni assai diluite.

Essendo ancòra poco conosciuta e studiata, non trovai fissa la dose che nel cane corrisponde alle comuni dosi terapeutiche per l'uomo; perciò ho dovuto procedere un pó a tentativi nell'impiego delle diverse dosi.

Le esperienze fatte colla campana concordano perfettamente con quelle fatte su animali tracheotomizzati; riassumerò adunque solo alcune di esse, riportando delle altre le conclusioni.

Serie I. — Esp. 18a. — Cane da caccia, kgr. 8,540.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.
—	Normale	13	mm. 1,29
0,7	Dopo iniez. milligr. 1 peronina per kgr.	16	» 1
0,30	—	12	» 1,52
1	—	12	» 1,30
1,35	—	17	» 3,20
2,5	—	14	» 2,20
		14	» 2,04

Pochi minuti dopo l'iniezione, il cane ha avuto dei tremiti muscolari, si mostrò agitato, ebbe conati di vomito senza effetto; ma fenomeni tutti assai leggerí, che scomparvero in brevissimo tempo.

Serie II. — Esp. 11a. — Cane bastardo. kgr. 10.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	14	mm. 5,2	Litri 3,64
0,7	Dopo iniez. milligr. 1 peronina per kgr.	25	» 7	» 4,73
0,42	—	14	» 7,5	» 3,91
1,12	—	16	» 8	» 4,08
1,38	—	18	» 7,5	» 4,32
		18	» 7,5	» 4,24

(1) Dr E. IMPENS: *Ueber die Wirkung des Morphins und einiger seiner Abkömmlinge auf die Athmung*. Deutsche Medicinische Wochenschrift, 1900. N. 23.

Dal che si scorge come le piccole dosi di 1 mmgr. di peronina per kgr. di cane normale aumentano il numero e l'ampiezza delle escursioni respiratorie ed aumentano pure la quantità d'aria introdotta nei polmoni ad ogni minuto.

Solo in *animali molto sensibili,* come quello che mi servì per l'esperienza 16ª della serie I, la medesima dose di 1 mmgr. per kgr. — pur producendo ancòra un aumento nel numero dei respiri — provocò una riduzione, sebbene lievissima, dell'ampiezza d'ogni singola escursione, tanto da portarla a mm. 2,99 da mm. 3,08 che era in principio. In questo medesimo cane si osservarono dopo l'iniezione irrequietudine spiccata, grande eccitabilità, tremiti muscolari diffusi, nausee, movimenti sussultorii di tutto il corpo che durarono per ben un'ora e mezza. Riferisco in disteso questa esperienza.

Serie I. — Esp. 16ª. — Cane bastardo. kgr. 8,400.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.
—	Normale	11	mm. 3,08
0,9	Dopo iniez. milligr. 1 peronina per kgr.	8	» 1,65
0,35	—	11	» 4,70
1,1	—	13	» 3,90
1,33	—	12	3 3
2,10	—	15	» 3,60
2,35	—	10	» 1,80
3,5	—	16	» 2,32
		12	» 2,99

A dosi superiori, mmgr. 2,5 per kgr. d'animale, si hanno i medesimi fenomeni osservati nelle esperienze antecedenti : aumento nel numero dei respiri, sebbene in modo non molto spiccato (da mm. 15 a 16), aumento nell'ampiezza del respiro stesso (da mm. 11 a 18) e nella ventilazione polmonare (da litri 4,22 a litri 4,48 al 1'). Anche a queste dosi dopo l'iniezione insorsero tremiti intensi per tutto il corpo, che durarono cinque minuti. I medesimi risultati ho ottenuto con dosi di 3 mmgr. per kgr, e — progredendo nelle esperienze — ancòra con dosi di mmgr. 7,5 per kgr. : il cane si addimostrava bensì alquanto abbattuto per questa dose, non mangiava più alla sera, ma l'indomani era completamente rimesso.

Invece, a cominciare dalla dose di 1 centigr. per kgr., la cosa cambia alquanto; continua bensì ad aumentare il numero dei respiri senza però toccare i limiti della dispnea, ma ne diminuisce l'ampiezza e nello stesso

tempo diminuisce pure la ventilazione polmonare. Riferisco la seguente esperienza fatta colla campana.

Serie I. — Esp. 12ª. — Cane bastardo, kgr. 8,350.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.
—	Normale	8	mm. 2,31
		—	—
0,5	Dopo iniez. centigr. 1 peronina per kgr.	19	» 0,95
0,30	—	14	» 0,90
1,10	—	11	» 0,85
1,38	—	12	» 0,75
1,58	—	14	» 0,80
		14	» 0,85

Ho constatato questi fatti anche per dosi di centigr. 1,5 per kgr., somministrati sempre di colpo e sotto la cute. Però a queste dosi aumentano i fenomeni generali dovuti alla peronina, gli animali divengono irrequieti, molto eccitabili, hanno nausee e conati di vomito assai pronunciati, veri accessi di tremiti, movimenti sussultorii di tutto il corpo; fenomeni i quali preludono all'azione spinale che si avrebbe assai accentuata spingendosi oltre nelle dosi, e che ho osservato pure in uno dei miei animali dopo iniezione di centigr. 1,5 di peronina per kgr. Anzi, di questo mi piace riportare i risultati ottenuti dall'esperienza, anche perchè iniettato al mattino — ho prolungato l'osservazione per l'intera giornata, ed ho potuto couchiudere ehe la peronina resta a lungo nell'organismo e si deve eliminare assai lentamente.

Serie I. — Esp. 14. — Cane Bulldog, kgr. 7,300.

Non raggruppo in una tabella i risultati perchè sono identici ai precedenti; mentre persiste aumento nel numero, si ha diminuzione piuttosto forte dell'ampiezza dei respiri. Invece è interessante riassumere il protocollo dell'esperienza appunto per i fatti generali insorti dopo l'iniezione.

28 Dic. Ore 9.29. Il cane vien messo nella campana.

Ore 10.17. Iniezione ipodermica di centigrammi 1,5 di peronina per kgr.

Ore 10.25. Compaiono a brevi intervalli scosse sussultorie che durano dapprima pochi secondi, poi si fanno quasi continui; nausee assai forti e conati di vomito senza effetto; animale eccitatissimo; grida, ha un aspetto spaventato.

Ore 10.35. Vomito mucoso abbondante; dopo continuano le nausee assai insistenti; seguitano i movimenti sussultorii; ad ogni piccolo rumore che si faccia nella camera l'animale si spaventa ed assume nella campana una posizione di difesa.

Ore 10.43. Nuovo vomito mucoso assai abbondante; respiro ansioso, anelante. Persistono tremiti muscolari generalizzati. In seguito si notano ad intervalli respiro ansioso, nausee e tremiti, e così continua fino alle ore 11.26.

Ore 19.26. Dopo un periodo di respirazione fortemente ansiosa, scoppia un vero accesso di tetano, della durata di 2″; dopo 2″ altro accesso come il primo; in seguito parecchi altri, di cui uno assai intenso, durato 1 minuto, con emissione di orina e perdita di saliva. Gli accessi tetanici seguitano, a brevissimi intervalli, fino alle 11.32 in cui cessano per lasciar posto a tremiti diffusi, moti sussultorii del corpo con vero clono del capo, respiro anelante.

Ore 11.50. Il cane ha la bocca semiaperta, la lingua sporta in avanti, perde la saliva; si trova in questo momento in completo rilasciamento muscolare ed ha l'aspetto assai depresso.

Ore 12. Si toglie il cane dalla campana e lo si lascia in libertà. È in condizioni cattive, cammina stentatamente, rifiuta il cibo.

Ore 14.30. Tornando in laboratorio, trovo il cane accovacciato, colla bocca semiaperta e la lingua sporgente, in preda a tremiti muscolari diffusi; non ha mangiato; l'eccitabilità riflessa è assai esagerata.

Ore 14.44. Viene rimesso nella campana per riscrivere il respiro; esso vi si distende e per tutto il pomeriggio, fine alle ore 18.50 in cui viene rimesso in libertà, non si muove più; solo presenta sempre tremiti diffusi molto accentuati, di tanto in tanto movimenti sussultorii forti e movimenti di caduta del capo. È cessato il respiro ansioso, non si è più verificato tetano.

Ore 18.50. Si libera l'animale, che non si dimostra però molto migliorato; è ancòra depresso e non si riesce a fargli mangiare la sua razione.

Debbo poi avvertire che, quando nel pommeriggio l'animale venne rimesso nella campana, l'altezza del respiro era ancòra quasi uguale a quella del mattino dopo l'iniezione (diminuità di più della metà) e neppure alla sera — dopo ore 8.33 — l'ampiezza delle escursioni respiratorie era tornata alla norma.

Parmi adunque si possa concludere da tutto ciò che — se la peronina esercita un' azione benefica sul respiro finchè ci arrestiamo alle piccole dosi — lo stesso non si può dire per le dosi alte; centigr. 1,5 per kgr. rappresentano già una dose dannosa, sia per il respiro in sè, sia per le condizioni generali del cane. Gli inconvenienti che seguono a queste dosi ci rammentano gli analoghi inconvenienti dati dalla morfina quando si usi press' a poco nelle stesse proporzioni. Però questi si manifestano per la peronina quando per la morfina non esistono ancòra; già ad 1 centigr. per kgr., ed anche a dosi minori come sòpra ho notato, ho potuto osservare che gli animali divengono irrequieti, molto eccitabili, sono invasi da tremiti diffusi a tutto il corpo, compare clono del capo: per 1 centigr. di morfina per kgr. non ho mai visto in alcun animale sopravvenire neppure in legger grado questi fenomeni.

Ho provato colle esperienze precedenti che il numero dei respiri aumenta in seguito all'uso della peronina; ma da queste e dalle numerose altre non riportate risulta come ciò succeda in cani normali sempre, e con respirazione affatto tranquilla e non influenzata dall'atto operativo. Ora in

due animali, che per studiare la ventilazione polmonare si dovettero legar al tavolo da esperienze e quindi tracheotomizzare, intervenne una dispnea, se non eccessiva, però assai evidente : in questi ho avuto risultati alquanto diversi dai sopra riferiti. La dispnea non era dovuta ad altro che ad eccitazione nervosa per la fissazione operata; del resto i cani erano affatto normali. Riporto una delle due esperienze suddette.

Serie II. — Esp 3a. — Cane da caccia. kgr. 13,800.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	23	mm. 3,9	Litri 5,87
0,7	Dopo l'iniez. milligr. 5 peronina per kgr.	18	» 4	» 5,14
1,8	—	13	» 4,5	» 4,31
2,17	—	18	» 3	» 4,94
		16	» 3,93	» 4,79

Nell'altro cane, iniettato con mmgr. 2 per kgr., diminuì pure il numero dei respiri (da 47 a 37); invece l'altezza crebbe da 6 a 9 e crebbe pure — benchè lievissimamente — la ventilazione polmonare.

Dunque nei casi con *dispnea iniziale*, dipendente da semplice eccitazione nervosa e non troppo forte, il numero degli atti respiratorii diminuisce e la dispnea si calma.

Ma nei casi di animali con *sensibilità esagerata*, in cui il semplice fatto di esser legati al tavolo di operazione provoca una *dispnea violentissima*, tale da non potersi contare il respiro e da non potersi nemmeno registrare perchè le valvole di Müller si vuotano, allora la peronina si è dimostrata del tutto inefficace. In uno di questi casi, in cui a mala pena sono riuscito a contare 150 respiri al minuto, iniettai in varie volte centigr. 6,5 di peronina per kgr., senza riuscire menomamente ad influenzare la dispnea. Volli provare la somministrazione successiva di piccola dose di morfina, e ne iniettai centigrammi 0,5 per kgr. ; il respiro si è calmato quasi subito ed è diventato regolare per frequenza; il cuore, prima stanco per il lavoro forzato, è tornato valido e le sue pulsazioni si rifecero ritmiche e regolari. Da questa esperienza appare chiaro come la morfina abbia sempre il sopravvento sulla peronina quando si voglia calmare una intensa dispnea.

Si può per la peronina arrivare a dosi assai più alte di quelle accennate più sopra usando la precauzione di iniettarla a *piccole dosi successive*, ed ottenere sempre un effetto utile sul respiro. Ho in una prima esperienza iniettato sotto cute 4 centigrammi di peronina per kgr. ottenendo

ancòra un aumento nel numero, nell'ampiezza dei respiri e nella ventilazione polmonare. Sono arrivato fino ad iniettare centigr. 11,5 per kgr. a piccole dosi rifratte, ed anche allora ebbi aumento nel numero dei respiri e nella ventilazione; l'altezza aveva una leggera tendenza a diminuire. Resta adunque assodato che si possono somministrare utilmente piccole dosi successive di peronina, sempre tenendosi — beninteso — nei limiti terapeutici.

Venendo ora a studiare l'azione della peronina negli animali in cui è ostacolata la funzione respiratoria per un *versamento pleurico* che sopprima buona parte dell'area polmonare funzionante, si giunge anche qui a risultati assai interessanti, i quali ci confermano vieppiù l'idea della superiorità che la morfina ha sulla peronina in simili casi. Riassumo una sola delle esperienze fatte in questo senso, perchè in tali casi le piccole dosi di peronina come le grandi agiscono nello stesso modo.

Serie II. — Esp. 7ª. — Cane Bulldog. kgr. 9,500.
Ha un esteso versamento pleurico destro.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	42	mm. 10,37	Litri 7,13
		—	—	—
0,30	Dopo iniez. milligr. 1 peronina per kgr.	35	» 5,7	» 5,73
1	—	27	» 5,97	» 4,57
1,37	—	32	» 8,40	» 5,07
1,51	—	21	» 7,13	» 3,85
2,50	—	12	» 9,57	» 2,81
		25	» 7,35	» 4,40

La peronina adunque, a dosi di 1 milligr. per kgr., riduce il numero e l'altezza del respiro e diminuisce la ventilazione polmonare. Lo stesso succede adoperando dosi superiori ; ancòra con 5 mgr. per kgr. di peso, che rappresenta già una dose alta quando si pensi che viene iniettata in un cane con limitazione grave dell'area respiratoria, si ottiene una diminuzione del numero dei respiri, tanto da potersene dedurre la conclusione che in questi casi la peronina riesce a calmare la dispnea. Però mi permetto di far osservare che questa azione calmante non si manifesta se non dopo un tempo molto lungo; perché, se si può dire che anche dopo 10 minuti è già diminuito il numero dei respiri, non si può parlare di un grande beneficio quando si contano ancòra 32 respiri al minuto un'ora e mezza dopo l'iniezione, come si vede dall'esperienza sopra citata : anzi, in un altro animale alla fine dell'esperienza — dopo quasi 3 ore dall'iniezione

di 2 mmgr. di peronina per kgr. — si avevano ancòra 36 respiri al minuto. A questo riguardo debbo notare come per calmare la dispnea agiscano assai meglio le dosi forti di peronina (mmgr. 5 per kgr.), perchè con esse già dopo 5 minuti si ha una diminuzione da 35 a 16 respiri al minuto, senza che perciò diminuisca troppo fortemente la ventilazione polmonare, la quale anzi si mantiene sempre relativamente più alta di quanto comporterebbe il numero delle escursione respiratorie.

Per dimostrare poi la superiorità della morfina sulla peronina per calmare la dispnea, mi piace accennare ad un caso di cane pleuritico, con 57 respiri al minuto, in cui 3 mmgr. di peronina per kgr. non avevano potuto calmare la forte ansia respiratoria, anzi l'avevano fortemente aumentata; orbene, iniettata uguale dose di cloridrato di morfina, ottenni dopo 5 minuti una diminuzione del numero dei respiri a 49, diminuzione che dopo 17 minuti era già progredita fino a 32 respiri. Questo caso mi pare molto probativo per confermare la tesi esposta al principio di questo paragrafo sull'azione sedativa della morfina stessa.

Del resto, come già per la morfina, si vede chiaramente da queste esperienze come l'azione respiratoria della peronina si manifesti in misura di gran lunga superiore sugli animali ammalati che non sui sani. Si ha qui una conferma di quella legge farmacologica già enunciata per la morfina, che cioè è assai più facile ricondurre al normale una funzione alterata che alterarla quando è normale.

Codeina.

Anche per questo succedaneo della morfina, prodotto di sostituzione metilica della medesima, entrato ormai largamente nella pratica medica, ho voluto vedere come reagisse il sistema respiratorio, essendo opinione comune che essa influenzi assai beneficamente il respiro, nel senso che non venga in alcun modo alterata la eccitabilità del centro respiratorio ed in nessun caso compaia una diminuzione dell'attività respiratoria medesima (1). E m'è parso abbastanza interessante il vedere se sperimentalmente si arrivasse alle medesime conclusioni che Winternitz dall'esame di 3 casi clinici si credette in diritto di poter ricavare; tanto più che Heinz (2) da una esperienza praticata in confronto colla morfina sarebbe venuto nella conclusione che la codeina può agire sulla riduzione del respiro in un grado ancor maggiore di quello che non faccia la morfina.

---

(1) Winternitz, l. c.

(2) Heinz, citato da Winternitz, l. c.

Ho adoperato per le mie esperienze il fosfato di codeina, sia perchè assai solubile mentre la codeina pura non lo é che in grande quantità d'acqua, sia perchè si va ora assai estendendo il suo uso nella pratica, e molti lo affermano più efficace. In cani perfettamente normali, con respiro tranquillo e di sensibilità non eccessiva, le piccole dosi di 1 mmgr. per kgr. non agiscono sul numero dei respiri in nessun senso; agiscono invece sull'ampiezza, aumentandola fortemente, come si può scorgere dalla seguente esperienza fatta introducendo il cane nella campana.

Serie I. — Esp. 22ª. Cane da pastore, kgr. 7,100.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.
—	Normale	20	mm. 0,3
		—	—
0,6	Dopo iniez. milligr. 1 di fosfato di codeina	18	» 0,8
0,33	—	16	» 1,4
1	—	25	» 1,2
		20	» 1,1

Anche la ventilazione resta in limiti press'a poco normali.

Invece in cani pur ancora normali, ma con una forte eccitabilità nervosa, con un numero iniziale di respiri di 27 al 1', si ha un abbassamento assai considerevole di tale numero, e quindi della ventilazione polmonare, mentre continua ad aumentare l'ampiezza delle singole escursioni. Lo prova l'esperienza seguente.

Serie II. — Esp. 30ª. — Cagna bastarda, kgr. 6,250.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	27	mm. 7	Litri 4,41
	—	—	—	—
0,13	Dopo iniez. milligr. 1 di fosfato codeina per kgr.	12	» 11	» 2,89
0,34	—	17	» 8	» 3,11
1,4	—	13	» 11	» 2,83
1,44	—	13	» 11	» 2,77
		14	» 10	» 2,89

Diverse altre esperienze ho fatto a questo proposito, e le ometto per brevità; ma parmi di potere, fondandomi su di esse, asserire che le piccole dosi di codeina, 1-2, fino a 3 milligr. per kgr., in cani normali aumentano leggermente il numero dei respiri, se perfettamente tranquilli; lo diminuiscono se il numero iniziale è già alto, senza aversi una vera dispnea; la

ventilazione polmonare segue le stesse vicende; ma in ogni caso aumenta sempre per queste dosi l'ampiezza del respiro.

Ma arrivando a 4-5 milligr. per kgr., i cani normali reagiscono alquanto diversamente.

Serie II. — Esp. 37. — Cane bastardo, kgr. 7,150.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	13	mm. 7	Litri 2,45
		—	—	—
0,11	Dopo iniez. milligr. 4 di fosfato codeina per kgr.	27	» 3	» 3,87
0,31	—	21	» 3,7	» 3,11
1,1	—	17	» 3,9	» 2,90
1,31	—	18	» 3,4	» 3,06
		21	» 3,5	» 3,25

Lo stesso per dosi di 5 mmgr. Dunque a 4-5 mmgr. per kgr. aumenta d'alquanto il numero dei respiri, aumenta la ventilazione polmonare, ma diminuisce l'ampiezza delle singole escursioni respiratorie, che fino a dosi di 3 mmgr. era in forte aumento.

I risultati fin qui riferiti riguardano tutti i cani normali e le dosi date di colpo. Ma essendo così comune l'impiego terapeutico della codeina, ho voluto anche vedere come si comportasse il respiro di fronte a piccole dosi date nella giornata, a gran distanza di tempo; ed assai istruttiva al proposito mi sembra l'esperienza che qui riassumo.

Serie II. — Esp. 31. — Cagna bastarda, kgr. 6,250.

18 Aprile 1901. Ore 9.21. Inietto nel sottocutaneo milligr. 1 di fosfato di codeina per kgr.; i risultati sono riferiti più sopra.

Nel pomeriggio, alle 15.15, cioè 6 ore dopo la prima somministrazione, inietto altri milligr. 2 di fosfato di codeina per kgr., ed ottengo i seguenti risultati:

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	13	mm. 4,5	Litri 2,35
		—	—	—
0,10	Dopo iniez. milligr. 2 di fosfati codeina per kgr.	13	» 4,5	» 2,24
0,30	—	14	» 4	» 1,93
1	—	13	» 3,5	» 1,45
1,30	—	14	» 4,1	» 1,44
1,50	—	12	» 3,75	» 1,52
		13	» 3,97	» 1,71

Queste cifre indicano che il numero dei respiri non viene influenzato,

mentre diminuisce la ventilazione polmonare e diminuisce pure l'ampiezza del respiro. Ora, riportandoci al cane affatto normale, prima che ricevesse l'iniezione del mattino, e ricordando che si tratta di un cane molto sensibile che aveva già 27 respiri, si ha una diminuzione forte nel numero dei respiri, il che deporrebbe peró per un effetto utile della codeina, la quale ricondurrebbe alla norma il tipo alquanto eccitato di respirazione. Ma assai importanti sono i dati che riguardano la ventilazione polmonare e l'ampiezza del respiro. La ventilazione, che con 27 respiri al 1' era di litri 4, 41, in seguito all'iniezione del mattino era discesa a litri 2, 89; nel pomeriggio, con un numero di respiri pressochè uguale (13 al 1') il valore della ventilazione si abassó ancora a litri 1, 71 al 1'. Contemporaneamente l'ampiezza, cui la prima dose aveva elevato da mm. 7 a 10, e che al principiare dell'esperienza pomeridiana, era di mm. 4, 5 si abbassa pure dopo la seconda iniezione, a mm. 3,97. Ora, tenendo conto del fatto che tra l'una e l'altra iniezione intercedette un periodo di sei ore, tempo durante il quale sarebbe lecito pensare che avrebbe dovuto eliminarsi la sostanza già introdotta, mi pare si possa concludere che la codeina, somministrata parecchie volte del giorno anche a piccole dosi, non sia poi cosi innocua come si potrebbe credere; perocché è assai eloquente la forte diminuzione della ventilazione polmonare e dell'ampiezza del respiro, diminuzione che a mio avviso tiene la sua origine per il sovrapporsi delle dosi, e per la grande lentezza della eliminazione dall'organismo.

Non è a mia condizione che altri abbia scritto intorno alla eliminazione della codeina; nel numero assai grande di lavori da me consultati per vedere quanto si fosse fatto su questo alcaloide, non ho trovato parola su questo argomento. Sembranmi adunque interessanti i miei risultati, specialmente per quanto riguarda l'impiego terapeutico della codeina.

Ho poi voluto anche studiare l'azione della codeina sul respiro in caso di intense *dispnee da sovraeccitazione nervosa* : riassumo in parole i risultati, senza riportare le esperienze fatte in proposito. Anche quì ho saggiato le varie dosi; anzi, somministravo prima delle piccole quantità, per vedere se queste fossero capaci di influenzare una violenta dispnea; poi iniettavo un'altra dose uguale o superiore. In termini generali posso dire che in dispnee molto gravi, con circa 80 respiri al 1', dosi di 2—3 mmgr. di codeina per kgr. sono inefficaci a calmarle; anzi in un caso ho visto, con 2 mmgr., salire il numero dei respiri a 91 e fino a 105, con una media complessiva di 86 : però nello stesso tempo ho visto in ogni caso

una forte diminuzione nel valore della ventilazione polmonare e nell'-ampiezza del respiro. Solo con una iniezone successiva ottenevo una leggera diminuzione della dispnea, fino a 72—73 respiri al minuto; diminuzione però affatto insufficiente allo scopo, potendosi pur sempre in tali condizioni parlare di dispnea e di dispnea molto grave. Invece con questa seconda iniezione, che non ha mai superato i 2 mmgr. per kgr., riuscivo ad ottenere un leggero rialzo nel valore della ventilazione polmonare, ed un aumento sempre considerevole nell'ampiezza del respiro. È inutile ripetere quì quali risultati si avessero colla morfina in simili casi: essi ci dimostrano ad evidenza la sua superiorità anche sulla codeina.

Venendo ora agli animali con *versamento pleurico*, divido subito le mie esperienze in 2 gruppi, uno per le dosi piccole di 1—2 mmgr. per kgr.; l'altro per le dosi maggiori di 3—5 mmgr.

Per quanto riguarda il primo gruppo, le piccole dosi di 1 mmgr. non influenzano affatto il numero dei respiri, diminuiscono invece leggermente la ventilazione polmonare. Le dosi di 2 milligr. per kgr. diminuiscono anche il numero dei respiri : ne fa prova la seguente esperienza.

Serie II. — Esp. 39 — Cane bastardo, kgr. 7,100. Pleurite destra.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	27	mm. 3,6	Litri 2,76
		—	—	—
0,10	Dopo iniez. milligr. 2 di fosfato codeina per kgr.	22	» 3,8	» 2,33
0,30	—	23	» 4	» 2,36
1	—	24	» 4	» 2,51
1,30	—	24	» 4,4	» 2,64
1,50	—	25	» 4,6	» 2,65
		24	» 4,1	» 2,49

Dunque le piccole dosi hanno poco valore per il numero dei respiri, che o non è alterato affatto o poco diminuito; abbassano leggermente il valore della ventilazione polmonare; invece aumentano la grandezza del respiro.

Le dosi maggiori agiscono in senso perfettamente opposto. Riporto i valori ottenuti con somministrazione di 3 milligr. per kgr.

Serie II. — Esp. 41ª. — Cane bastardo da caccia, kgr. 17,250. Pleurite destra.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	32	mm. 7,5	Litri 9,54
		—	—	—
0,8	Dopo iniez. milligr. 3 fosfato codeina per kgr.	32	» 8,2	» 10
0,38	—	37	» 8,2	» 12,52
1,8	—	44	» 7	» 13,52
1,28	—	38	» 9	» 13,35
		38	» 8,1	» 12,37

Tre milligr. di fosfato di codeina per kgr. in un cane pleuritico producono un aumento nel numero dei respiri, nella ventilazione polmonare e nella grandezza del respiro. Spingendo le dosi fino a 5 milligr. per kgr. si ha ancora un aumento del numero; diminuiscono invece il valore della ventilazione polmonare e l'ampiezza del respiro. Quando la dispnea da versamento pleurico sia assai grave, tanto da aversi oltre 50 respiri al 1', fatto che non è frequente, ma che pure io vidi verificarsi qualche volta negli animali, allora le dosi forti agiscono deprimendo l'attività respiratoria; perchè, — sebbene vi possa essere ancora un piccolo aumento nell'ampiezza del respiro — vi è diminuzione della ventilazione polmonare e diminuzione del numero dei respiri, senza però che si abbia un grande effetto utile, nel senso di calmare la dispnea.

Lo dimostri il fatto che in un cane con versamento pleurico destro, con 72 respiri al 1', una ventilazione polmonare di litri 6,32 al 1', un'altezza media del respiro di 2 millim., dopo iniezione di 4 milligr. di fosfato di codeina per kgr., l'altezza era bensì salita a mm. 2,7 e la ventilazione diminuita a litri 4,76 al 1', ma gli atti respiratori rappresentavano ancora un numero medio di 58; e se in seguito all'iniezione erano subito discesi a 33, dopo ore 1,28 erano di nuovo 72.

Secondo le mie esperienze avrebbe dunque ragione WINTERNITZ, quando conchiude che la codeina, per dosi terapeutiche, non diminuisce l'eccitabilità del centro respiratorio. È sempre preferibile la morfina, ma la codeina ne è certamente un buon succedaneo.

Dionina.

Prodotto di sostituzione etilica della morfina, omologo superiore della codeina, secondo MERING(1) la dionina avrebbe fondamentalmente l'azione della codeina stessa, ma alquanto più forte e di durata maggiore. Le osser-

(1) MERING. — Citato da WINTERNITZ, l. c.

vazioni terapeutiche raccolte dagli autori sembrano confermare tale fatto, il quale del resto trova la sua spiegazione nell'osservazione farmacologica che i gruppi etilici sono superiori ai corrispondenti gruppi metilici.

Preconizzata da molti autori come il migliore fra i succedanei della morfina, la dionina si adopera allo stato puro; non se ne sono finora preparati dei sali, di cui peraltro non si riconosce la necessità, essendo essa molto solubile in acqua alla temperatura ordinaria. Anche per questo corpo ho eseguito esperienze colla campana ed esperienze su animali tracheotomizzati: riporto alcune di esse, citando delle altre al solito i risultati.

Serie II. — Esp. 19º. — Cagna nera, kgr. 12,200.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	21	mm. 9,25	Litri 4,67
		—	—	—
0,9	Dopo iniez. milligr. 1 dionina per kilogr.	16	» 9,65	» 3,51
0,35	—	11	» 11,20	» 2,22
0,59	—	12	» 12,75	» 3,31
1,14	—	11	» 13,11	» 2,78
		12	» 11,81	» 2,70

Le piccole dosi di dionina (1 milligr. per kgr.) diminuiscono adunque il numero dei respiri e la ventilazione polmonare, aumentano invece l'altezza del respiro stesso.

Invece a dosi di 2 milligr. per kgr. si hanno risultati alquanto diversi.

Serie II. — Esp. 22ª. — Cane bastardo, kgr. 6,800.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	12	mm. 23	Litri 3,20
		—	—	—
0,25	Dopo iniez. milligr. 2 dionina per kgr.	15	» 28	» 3,97
1,9	—	13	» 50	» 3,34
1,39	—	12	» 58	» 2,94
2,4	—	17	» 63	» 3,31
		14	» 49	» 3,39

Questo specchio dimostra che con 2 milligr. per kgr. aumentano tutti e tre i fattori studiati; per cui con questa dose si avrebbe un'azione veramente benefica sul respiro. Questi risultati sono perfettamente attendibili perchè si accordano i fenomeni ottenuti nei cani tracheotomizzati con quelli fornitici dalle esperienze colla campana.

Se poi aumentiamo ancora le dosi, allora vediamo che torna a diminuire il numero dei respiri e il valore della ventilazione polmonare;

con milligr. 2,5—3—5 per kgr. ho avuto risultati sempre identici; mentre anche per queste dosi aumenta sempre l'ampiezza del respiro. Riferisco al proposito un'esperienza praticata con milligr. 5 di dionina per kgr.

Serie II. — Esp. 23a. — Cane bastardo, kgr. 6,800.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	14	mm. 15	Litri 3,67
		—	—	—
0,12	Dopo iniez. milligr. 5 dionina per kgr.	13	» 18	» 3,58
0,37	—	12	» 22	» 3,19
1,12	—	13	» 24	» 3,50
1,27	—	14	» 25	» 3,56
		13	» 22	» 3,40

L'ampiezza del respiro aumenta dunque costantemente, qualunque dose si usi.

In animali normali che, senza avere una grave *dispnea iniziale,* hanno pur tuttavia, un numero di respiri maggiore della norma per il semplice fatto di venir fissati al tavolo d'esperienze, la dionina non diminuisce già il numero dei respiri, ma li accresce d'alquanto; in un robusto cane da pastore, con 28 respiri al minuto, una iniezione di milligr. 5 di dionina per kgr. produsse un'aumento fino a 33, mentre per la medesima dose in animali affato tranquilli il numero si abbassa. Anche qui peró aumenta l'ampiezza delle singole escursioni respiratorie. Negli animali poi che hanno una *eccitabilità nervosa molto viva,* e che al principio dell'esperienza hanno una dispnea assai grave, di 84 respiri al minuto, indotta semplicemente dal venir legati sul tavolo d'operazione, si osserva in seguito all'uso della dionina una forte diminuzione del numero che si riduce a 38, ma ció succede solo verso la fine dell'esperienza, quando l'animale, stanco ed esausto, incomincia a presentare aritmia del polso, respiro stertoroso e sembra prossimo a morte. Quindi questa riduzione del numero, ottenuta dopo aver somministrati 2 milligr. di dionina per kgr., non parmi si possa mettere in dipendenza della dionina medesima; lo prova il fatto che in un altro animale assai più robusto con una intensissima dispnea da sovraeccitazione nervosa 5 milligr. di dionina per kgr. sono rimasti senza effetto; e la dispnea durava colla stessa costanza e intensità ancóra due ore dopo l'iniezione di dionina.

In una esperienza citata precedentemente nel corso del lavoro si puó vedere come in simile circostanza una piccola dose di morfina riesca sempre a dare una calma quasi instantanea ed assoluta.

Uscendo dal campo degli animali normali, la dionina si mostra variamente utile nei casi di *versamento pleurico* e di limitazioni respiratorie in genere a seconda delle dosi a cui viene somministrata.

Riporto alcune esperienze, per illustrare l'azione della dionina in questi casi.

Serie II. — Esp. 25. — Cane da caccia, kgr. 13,400. — Pleuritico.

Ore dopo l'iniez.	Condizione del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	23	mm. 7	Litri 4,69
		—	—	—
0,5	Dopo iniez. milligr. 1 dionina per kgr.	19	» 8	» 4,36
0,35	—	20	» 10	» 4,14
1,11	—	18	» 10	» 3,67
1,57	—	16	» 12	» 3,27
		18	» 10	» 3,86

Uguali risultati si hanno per dosi di milligr. 2 per kgr. Invece la cosa cambia alquanto per dosi superiori, come si vede dalle esper. seguenti.

Serie II. — Esp. 27. — Cane terrier, kgr. 6. — Pleuritico.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	50	mm. 5,25	Litri 8,29
		—	—	—
0,10	Dopo iniez. milligr. 3 dionina per kgr.	48	» 4,5	» 7,83
0,41	—	46	» 4,5	» 7,16
1,11	—	34	» 5	» 5,56
2,1	—	40	» 4,75	» 5,94
2,26	—	36	» 4,6	» 4,96
		40	» 4,67	» 6,29

Anche con 4 milligr. per kgr. si hanno gli stessi risultati.

Serie II. — Esp. 28a. — Cane terrier, kgr. 6. — Pleuritico.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
	Normale	21	mm. 6,5	Litri 3,32
		—	—	—
0,12	Dopo iniez. milligr. 5 dionina per kgr.	23	» 5,6	» 3,27
0,32	—	23	» 5,5	» 3,25
1,2	—	40	» 4,5	» 5,09
1,33	—	37	» 5	» 5,12
		33	» 5,1	» 4,17

Esaminando queste esperienze, che non rappresentano se non tre fra le più tipiche ed evidenti, si scorge come la dionina, negli animali pleuritici, diminuisca la dispnea e la ventilazione polmonare ed aumenti l'ampiezza delle escursioni respiratorie somministrata a dosi di milligr. 1, fino a 2 per kgr.; come dosi di 3 a 4 milligr. per kgr. riescano ancora a calmare la dispnea, sebbene non in modo da ridurre il respiro ad un tipo tranquillo e normale, ma nello stesso tempo diminuiscono già l'ampiezza del respiro stesso; come finalmente dosi superiori a 4 milligr. per kgr. non solo non riescano più a calmare una dispnea, ma la accentuino quando questa è poco evidente, aumentando insieme la quantità d'aria introdotta nei polmoni, per quanto non in modo proporzionale, e diminuendo spiccatamente l'ampiezza dell'onda respiratoria.

Sembrami perciò che, quando si voglia usare la dionina in casi di soppressione d'una parte dell'area polmonare funzionante, debbano ottenersi effetti utili dalle dosi piccole, perchè quelle appena un po'maggiori ci danno dispnea da una parte, abbassamento dell'escursione respiratoria dall'altra.

Perciò occorre distinguere sull'affermazione di WINTERNITZ che per la dionina la frequenza del respiro e la eccitabilità del centro respiratorio non vengano influenzati e che in nessun caso si abbia un abbassamento di questi fattori. La dionina esercita un azione veramente utile a piccole dosi; ma quando ne sorpassiamo i limiti, occorre pur sempre ricordarsi che possiede anch'essa le proprietà fondamentali del corpo da cui deriva. Usata con riguardo, è certamente un ottimo succedaneo della morfina, che — secondo l'affermazione degli autori — sarebbe scevra dal pericolo di assuefazione che colla morfina si ha tanto di frequente.

Eroina.

Dopo che BAYER ha messo in commercio l'eroina, ottenuta per sostituzione dei due ossidrili della morfina col gruppo acetilico, una copiosa letteratura ha veduto la luce per illustrarne le proprietà farmacologiche e curative. Però non sono guari d'accordo gli autori in proposito. DRESER (1) dalle sue esperienze sui conigli conchiude per una diminuzione della frequenza del respiro, dipendente da una prolungata espirazione e dal prolungamento della durata dell'inspirazione; quindi per ogni escursione respiratoria un'area maggiore di capillari polmonari verrebbe messa in

(1) DRESER: *Farmacologisches über einige Morphinderivate.* Therapeutische Monatshefte, 1898, September, p. 509.

contatto coll'ossigeno : inoltre non sarebbe alterata l'eccitabilità del centro del respiro. Invece Dott e Stokmann(1) asseriscono in base alle loro ricerche che l'eroina è un tossico cardiaco e respiratorio di gran lunga superiore alla morfina. Harnak(2) arriva alla medesima conclusione e così pure Winternitz(3) il quale — appoggiandosi sull'affermazione di Dreser che si abbia una coscienziosa indicazione di un rimedio contro la tosse quando sia provato che questa si calma senza una troppo notevole limitazione dell'attività respiratoria — afferma che da quanto ha visto sull'uomo si puó ragionevolmente dubitare se l'impiego dell'eroina sia giustificabile. Strube(4) parla di diminuzione nella frequenza delle respirazioni; così Leo(5) il quale ha visto prolungarsi l'inspirazione; Eulenburg(6) dice che a parità di dosi l'eroina gli sembra meno efficace della morfina; Morel-Lavallée(7) impiega l'eroina con vantaggio per sostituire la morfina. Da questi pochi autori citati, e dal numero stragrande d'altri che si occuparono dell'argomento, si vede come controverse assai siano ancóra le proprietà dell'eroina.

Non m'è parso quindi inutile l'istituire anche per essa una serie di ricerche come le precedenti per paragonarla alla morfina.

Non ho adoperato l'eroina pura perchè poco solubile ed anche perchè praticamente sembra che tenda oggidi a venir sostituita dal cloridrato di eroina, molto solubile.

Trattandosi di un preparato su cui tanto si è discusso, e che non è ben chiaro fino ad oggi in che modo agisca, esporrò alquanto più dettagliatamente che per gli altri corpi i risultati delle mie esperienze in proposito.

Ho voluto vedere anzitutto come si comportasse il numero e l'ampiezza del respiro, senza preoccuparmi della ventilazione polmonare, ed ho fatto queste ricerche nelle condizioni più favorevoli, lasciando l'animale assolutamente in libertà nella campana. Con questo metodo sono fatte le tre esperienze seguenti.

---

(1) Dott e Stokmann : citato da Winternitz, l. c.

(2) Harnak : citato da Winternitz, l. c.

(3) Winternitz : l. c.

(4) Strube : Berl. klin. Wochenschrift, 7 Nov. 1898.

(5) Leo : Deutsche Medicinische Wochenschrift, 23 Marzo 1899.

(6) Eulenburg : Deutsche Medicinische Wochenschrift, 23 Marzo 1899.

(7) Morel-Lavallée : Revue de Médecine, 20 nov. 1900.

Serie I. — Esp. 26ª. — Cane Bulldogg, kgr. 8,300.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.
—	Normale	11	mm. 1,9
0,10	Dopo iniez. milligr. 0,66 cloridrato d'eroina per kgr.	11	» 2,4
0,28	—	14	» 1,1
0,41	—	15	» 1,4
0,51	—	13	» 1,9
1	—	13	» 3,3
		13	» 2

Serie I. — Esp. 27ª. — Cane Bulldog, kgr. 8,300.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.
—	Normale	9	mm. 2,2
0,10	Dopo iniez. mgr. 1 cloridrato d'eroina per kgr.	13	» 0,3
0,20	—	14	» 0,5
0,30	—	14	» 0,5
0,40	—	13	» 1
0,50	—	13	» 1,3
1	—	13	» 1,2
		13	» 0,8

Serie I. — Esp. 28ª. — Cane da pastore, kgr. 7,100.

Il cane era perfettamente normale; aveva un numero di respiri uguale a 21, un'altezza primitiva delle escursioni respiratorie di mm. 2,2. Iniettato con milligr. 3 di cloridrato di eroina per kgr., dopo 10 minuti — provato a scrivere il respiro — riuscì impossibile; nè per tutto l'ulteriore decorso dell'esperienza (l'animale venne lasciato nella campana per quasi due ore) si potè registrare altro che una linea, lievemente ondulata; tanto il respiro era divenuto piccolo e superficiale, che non riuscivano più le escursioni respiratorie a far vibrare l'aria interna della campana e trasmetterne le vibrazioni alla leva del timpano. Si vedeva però attraverso ai vetri della campana che il respiro era assai dispnoico.

Confrontando queste tre esperienze, mi pare si possa assistere ad un vero crescendo dell'azione tossica di questo alcaloide. Con una dose minima, milligr. 0,66 per kgr. di peso, il respiro aumenta di numero, e — prendendo la media dei diversi tracciati — aumenta pure leggermente di ampiezza; però un preludio all'azione tossica si ha in ciò che poco tempo dopo l'iniezione il respiro si abbassa di 8/10 di millimetro dal normale, per ritornare poi al normale ed anche superarlo. Un milligramma di cloridrato d'eroina per kgr. produce invece in modo assai spiccato una limitazione

del respiro, tanto da aversi dopo l'iniezione una media di mm. 0,8 in confronto col normale di mm. 2,2 : anche qui aumenta il numero. Finalmente con 3 milligr. per kgr. interviene una intensa dispnea e l'altezza da mm. 2,2 si abbassa in modo tale che non si riesce più a scrivere il respiro.

Questi risultati si ottengono su animali con respirazione perfettamente tranquilla. Ma quando in essi vi sia già una eccitazione respiratoria maggiore della norma, in modo da aversi in un minuto un numero di respiri più alto, senza rasentare i limiti della dispnea, o pur già avendosi questa, allora interviene in seguito all'uso dell'eroina una diminuzione nel numero e nell'ampiezza del respiro. La ventilazione diminuisce sempre in cani normali. Riferisco in proposito l'esperienza seguente.

Serie II. — Esp. 44ª. — Cane Bulldog, kgr. 8,300.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numéro dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	33	mm. 8	Litri 5,30
		—	—	—
0,10	Dopo iniez. milligr. 1 di cloridrato d'eroina per kgr.	15	» 9	» 2,12
0,30	—	16	» 6,5	» 2,55
1	—	21	» 3,7	» 3
1,39	—	36	» 2,5	» 4,54
		22	» 5,3	» 3,05

Osservando il comportamento di questa esperienza, si vede come la ventilazione sia assai diminuita, e come — fatto assai importante — se riguardo al numero medio dei respiri dopo l'iniezione esso è diminuito, vi é però un rialzo progressivo fino a raggiungere un numero superiore a quello del cane normale.

D'altra parte l'ampiezza delle escursioni respiratori va progressivamente e scalarmente diminuendo fino a ridursi quasi ad un quarto della primitiva, e credo si sarebbe abbassata ancòra ove si fosse continuata più oltre l'esperienza.

Lo stesso succede per le dosi maggiori : sempre si verifica il fatto dell'aumento lento ma progressivo del numero dei respiri fino ad aversi una vera dispnea, e la diminuzione continua dell'altezza delle singole escursioni. Quindi mi pare si possa dire che vi è accordo perfetto fra le due serie di esperienze, e si possa concludere che l'eroina — in cani normali, anche a tenui dosi — rende il respiro piccolo e superficiale, abbassa il valore della ventilazione polmonare e produce dispnea : ció contrasterebbe coll'opinione di Dreser, il quale ammette che la eccitabilità del centro del respiro non

venga dall'eroina in alcun modo alterata. Questa eccitabilità del centro del respiro in cani normali viene bensì aumentata, ma non in modo utile per l'organismo; malgrado questo aumenta, si avrebbe un'azione dannosa dall'uso dell'eroina. Inoltre mentre DRESER ha osservato sempre un prolungamento nella durata dell'inspirazione e dell'espirazione, io ho visto bensì quest'ultima assai accentuata, ma non potei mai osservare la prima.

L'eroina calma le intense *dispnee da sovraeccitazione nervosa,* accostandosi in ció alla morfina; peró in questi casi aumenta l'ampiezza del respiro e le dosi troppo piccole non agiscono. Valga a dimostrarlo l'esperienza seguente.

Serie II. — Esp. 43ª. — Cagna di kgr. 5.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	99	mm. 15	Litri 6,38
0,15	Dopo iniez. milligr. 1 di cloridrato d'eroina per kgr.	63	» 19	» 3,90
0,35	—	44	» 20	» 3,45
1,5	—	43	» 25	» 2,81
1,25	—	41	» 25	» 4,51
		47	» 22	» 3,67

L'eroina quindi sembra produrre un vero effetto utile nei casi di intense dispnee d'origine nervosa.

Lo stesso risultato si ottiene negli animali *con versamento pleurico* e nelle affezioni in genere degli organi polmonari con limitazione dell'area respiratoria. Riporto in proposito le tre esperienze seguenti.

Serie II. — Esp. 47ª. — Cane Bulldog, kgr. 7,500. — Pleuritico.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	40	mm. 6,7	Litri 6,19
0,8	Dopo iniez. milligr. 0.5 di cloridrato d'eroina per kgr.	38	» 8	» 5,93
0,33	—	30	» 8	» 4,16
0,51	—	42	» 6	» 4,61
1,3	—	60	» 5,1	» 6,28
		42	» 6,5	» 5,24

Nei versamenti pleurici adunque, con dose di mezzo milligr. per kgr., l'ampiezza del respiro è poco influenzata dall'eroina; diminuisce d'alquanto, ma di quantità inapprezzabile. Invece il numero degli atti respi-

ratorii è dapprima ridotto assai, poi torna ad aumentare, e dopo un'ora supera d'un terzo il numero primitivo : in quest'esperienza, dove per la piccola dose dell'eroina se ne manifesta la vera azione, senza che entrino in scena i fenomeni secondarii dati dalla morfina e dai suoi succedanei ad alta dose, si ripete adunque il fatto osservato già negli animali sani, la dispnea cioè che interviene in seguito all'eroina. La ventilazione, nonostante il leggero aumento totale del numero dei respiri, diminuisce.

Serie II. — Esp. 48ª. — Cane mops, kgr. 7,600. — Pleuritico.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	52	mm. 6,3	Litri 4,26
		—	—	—
0,10	Dopo iniez. milligr. 1 di cloridrato d'eroina per kgr.	48	» 7,1	» 4,43
0,30	—	33	» 7,5	» 3,25
1	—	35	» 8,3	» 3,56
1,41	—	36	» 7,4	» 3,95
		38	» 7,6	» 3,79

Serie II. — Esp. 49ª. — Cane Bulldog. — Pleuritico e Pneumonitico.

Ore dopo l'iniez.	Condizioni del tracciato	Numero dei respiri in 1'	Altezza in mm.	Ventilazione polmonare in 1'
—	Normale	48	mm. 5,7	Litri 4,18
		—	—	—
0,12	Dopo iniez. milligr. 3 di cloridrato d'eroina per kgr.	40	» 6	» 3,31
0,32	—	32	» 6,8	» 2,60
1,2	—	33	» 7,1	» 3.19
1,22	—	38	» 6,8	» 3,48
		35	» 6,7	» 3,14

Da queste esperienze si puó concludere che negli animali con versamento pleurico le dosi alte di eroina diminuiscono il numero dei respiri calmando la dispnea, aumentano l'ampiezza delle escursioni respiratorie; la ventilazione polmonare diminuisce, ma non in modo molto accentuato. Quindi un certo effetto utile immediato si avrebbe.

Però si può scorgere dalle esperienze sopra riportate che questo effetto utile ha breve durata, perchè dopo poco tempo il numero dei respiri torna ad aumentare; quindi l'azione è fugace e — se si considera l'effetto sugli animali sani — non vi è gran vantaggio a sostituirla alla morfina quando di questa vi sia l'indicazione.

Dal complesso di queste esperienze mi pare di poter conchiudere che

è assai assennata l'osservazione di Dott e Stokmann che l'eroina sia un tossico respiratorio più forte della morfina.

A chiudere questo mio lavoro serve perfettamente quanto asserisce WINTERNITZ, che vi è una differenza molto notevole fra i derivati alchilici e i derivati acetilici della morfina : mentre quelli — codeina e dionina — hanno un'azione assai più utile sul respiro, questi — eroina — determinano una notevole limitazione sia del respiro, sia dell'eccitabilità del centro respiratorio. Questa memoria — fondata sul ragguardevole numero di 84 esperienze — parmi deponga perfettamente in questo senso. Quanto ai prodotti di sostituzione benzilica — peronina — essa agisce pure qualche volta ed a piccole dosi in modo utile sul respiro.

Rimane peró sempre incontrastata la superiorità della morfina su tutti i suoi succedanei, sia negli animali normali, che in quelli con limitazione dell'area respiratoria. I suoi derivati potranno utilizzarsi con vantaggio quando vi sia il pericolo d'una facile assuefazione alla morfina, e quindi in tutte quelle forme in cui vi è l'indicazione per un uso continuato della medesima; ma non si potrà mai da essi sperare quegli effetti che hanno reso la morfina indispensabile in tante affezioni.

Torino, Maggio, 1901.

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE PHARMACODYNAMIE ET DE THÉRAPIE
DE L'UNIVERSITÉ DE GAND.

23. Sur la prétendue désintoxication du cyanure de potassium par la morphine, et de la morphine par le permanganate de potassium

PAR

J.-F. HEYMANS ET A. VAN DE CALSEYDE(1).

D'après L. HEIM, le chlorhydrate de morphine serait un contrepoison du cyanure de potassium : « De nos expériences, dit-il(2), il résulte incontestablement que l'injection hypodermique d'une dose non mortelle de morphine peut effectivement sauver d'une mort certaine les souris empoisonnées par le cyanure de potassium, ou du moins retarder la mort dans la plupart des cas. En effet, des dix souris empoisonnées par le cyanure et traitées ensuite par la morphine, six furent sauvées, trois moururent seulement après une à deux heures et une seule succomba aussi rapidement que les animaux témoins; les cinq souris témoins, par conséquent non traitées, moururent toutes environ endéans une demie heure. »

Comme suite à nos expériences antérieures, nous avons cru utile de contrôler les observations de HEIM, et cela en expérimentant d'abord sur le lapin, pour lequel on connaît parfaitement la dose mortelle de cyanure de potassium, les symptômes et la marche de l'intoxication.

A cet effet, nous avons déterminé d'abord la toxicité du chlorhydrate

(1) Cfr. Bulletin de l'Académie royale de médecine de Belgique, séance du 26 janvier 1901.

(2) L. HEIM : Münchener medicinische Wochenschrift, 1896, p. 862.

de morphine donné en injection hypodermique à cet animal; puis nous avons examiné si le chlorhydrate de morphine, à dose non mortelle, injecté après une dose mortelle de KCN, était capable d'empêcher ou du moins de retarder notablement la mort (action curative). Enfin, nous avons administré d'abord la morphine à dose non mortelle, puis le KCN à dose mortelle (action préventive).

Disons ici que le chlorhydrate de morphine et le cyanure étaient injectés sous la peau en solution aqueuse. La solution de cyanure était dosée avant usage à l'aide de la méthode de Liebig.

Toxicité du chlorhydrate de morphine en injection hypodermique chez le lapin.

Numéro d'ordre	Poids de l'animal en gr.	Quantité injectée, en mgr.	Quantité par kilogr. d'animal en milligr.	— Survie + Mort	OBSERVATIONS
I.	1409	140	100	—	
II.	1450	181	125	—	
III.	1268	190	149	—	
IV.	1470	219	150	—	
V.	1160	232	200	+	Après 24 heures.
VI.	1495	326	220	+	Après 2 heures.
VII.	1875	468	250	+	Après 2 1/2 heures.

Par conséquent, le chlorhydrate de morphine que nous avons employé, donné en injection hypodermique au lapin, est mortel à la dose de 150 à 200 milligrammes par kilogramme d'animal.

Action curative de la morphine sur l'intoxication par le cyanure de potassium. — La dose franchement mortelle de KCN — calculée en HCN, elle est de 3 milligrammes par kilogramme de lapin (1) — étant administrée par voie sous-cutanée, peut-on modifier à quelque degré l'évolution habituelle de l'intoxication cyanhydrique en injectant au côté opposé du corps une dose non mortelle de chlorhydrate de morphine (150 miligrammes par kilogramme)?

Vu l'action si rapide et si foudroyante de ce poison, cela nous parut peu probable, et les deux expériences rapportées ci-dessous confirment ce doute.

(1) LANG : Archiv. f. exp. Pathol. und Pharm., 1895, p. 75. — HEYMANS et P. MASOIN, Archives de pharmacodyn., 1896, vol. III, fasc. 3 et 4, p. 359.

Numéro d'ordre	Poids de l'animal en grammes	HCN Quantité injectée		Intervalle	MORPHINE Quantité injectée		— Survie. + Mort	OBSERVATIONS
		en milligr.	par kilogr. d'animal		en milligr.	par kilogr. d'animal		
I.	1380	4,14	3	Minut. 2 1/2	207	150	+	Intoxication très rapide. Convulsions cloniques, puis tétaniques. Réflexe cornéen aboli. Arrêt respiratoire prolongé (1 minute environ). Pendant ce temps, injection de morphine. Mort 4 1/2 minutes après injection KCN ; 2 minutes après injection de morphine.
II.	1330	3,99	3	3	199	150	+	1 1/2 minute après injection KCN : agitation, paralysie, convulsions tétaniques. Après injection de morphine : paralysie, réflexe cornéen aboli, arrêt respiratoire prolongé. Mort 8 minutes après injection KCN ; 5 minutes après injection de morphine.

Action préventive de la morphine sur l'intoxication par le cyanure de potassium. Si la morphine possédait réellement quelque action sur l'intoxication par le cyanure, elle l'exercerait au maximum quand elle sature déjà l'organisme au moment de l'administration, de l'absorption et de l'action du cyanure.

Pour réaliser ces conditions expérimentales, nous avons injecté à des lapins des doses considérables mais non mortelles de morphine (125 à 150 milligrammes par kilogramme d'animal); après des intervalles de temps graduellement croissants, variant de deux minutes à vingt-quatre heures, nous injectons hypodermiquement, en un autre endroit, une dose sûrement mortelle de KCN (3 milligrammes de HCN par kilogramme d'animal, comme plus haut).

Le tableau ci-joint résume cette série d'expériences.

Numéro d'ordre	Poids de l'animal en grammes	MORPHINE Quantité injectée		Intervalle	HCN Quantité injectée		— Survie. + Mort	OBSERVATIONS
		en milligr.	par kilogr. d'animal		en milligr.	par kilogr. d'animal		
				Minut.				
I.	1300	195	150	2	3,89	3	+	4-5 minutes après injection de KCN : convulsions cloniques, puis tétaniques, respiration irrégulière et spasmodique, puis arrêt respiratoire prolongé. Mort 10 min. après injection de KCN.
II.	987	148	150	15	2,9	3	+	Animal affaissé, somnolent ; absence de mouvements spontanés. 3 min. après inject. de KCN : sort brusquement de sa torpeur, agitation, tombe sur le flanc. 4 minutes après : respiration irrégulière, saccadée. 5 minutes après : convulsions. Mort 11 min. après injection de KCN.
III.	1345	168	125	30	4,0	3	+	2 minutes après inj. de KCN : respiration accélérée, agitation. 2 1/2 minutes après : convulsions, arrêt respiratoire, puis irrégularités respiratoires. Mort 12 min. après injection de KCN.
IV.	1196	149	125	32	3,58	3	+	4 minutes après inj. de KCN : agitation, accélération respiratoire, successivement : 11, 15, 20, 40 au 1/4. 1 1/2 heure après : tombe sur le côté, paralysie, tremblement, respiration se ralentit insensiblement. N'a pas présenté de convulsions. Mort 3 h. 25' après injection de KCN.
V.	1575	234	150	33	4,7	3	+	Animal en narcose morphinique profonde. 3-4 minutes après inj. de KCN : respiration accélérée, légère agitation, convulsions. Alternatives d'état convulsif et d'état paralytique ; respiration irrégulière et graduellement plus lente. Mort 57 min. après injection de KCN.
VI.	1550	193	125	40	4,7	3	+	2 minutes après inj. de KCN : agitation, respiration accélérée. 3 min. après : convulsions, respiration presque abolie, puis reprenant un peu (6-7 par minute). Mort 17 min. après injection de KCN.
VII.	1730	259	150	60	5,19	3	+	2 1/2 minutes après inj. de KCN : anxiété, respiration accélérée. 5 m. après : convulsions, absence du réflexe cornéen, respiration très saccadée. 12 minutes après : convulsions, arrêt respiratoire. Mort 18 min. après injection de KCN.
				h. m.				
VIII.	1455	182	125	4 20	4,9	3,4	+	2 minutes après injection de KCN : accélération respiratoire, convulsions, arrêt respiratoire, puis retour de la respiration. Mort 11 min. après injection de KCN.

Numéro d'ordre	Poids de l'animal en grammes	MORPHINE Quantité injectée		Intervalle	HCN Quantité injectée		— Survie. + Mort	OBSERVATIONS
		en milligr.	par kilogr. d'animal		en milligr.	par kilogr. d'animal		
				h. m.				
IX.	1645	205	125	7 30	4,7	2,9	+	2 minutes après injection de KCN : agitation. 3 minutes après : convulsions tétaniques. Mort 6-7 min. après inj. de KCN.
X.	1535	191	125	13 15	4,6	3	+	2 minutes après injection de KCN : accélération considérable de la respiration ; s'affaisse. 4 1/2 minutes après : convulsions, arrêt respiratoire prolongé. Mort 10 min. après injection de KCN.
XI.	1600	200	125	24 0	4,8	3	+	1 minute après injection de KCN : ampleur respiratoire. 3 minutes après : s'affaisse. 4 minutes après : convulsions, arrêt respiratoire persistant. Mort 5-6 min. après inj. de KCN.

Comme le démontrent ces expériences, tous les animaux, quoique morphinisés préalablement, meurent par une dose simplement mortelle de cyanure; la morphine n'a donc pas davantage d'action antitoxique préventive vis-à-vis de ce poison. Elle ne retarde pas non plus le moment d'apparition des premiers symptômes d'intoxication qui se manifestent environ deux minutes après l'injection hypodermique de KCN à raison de 3 milligrammes (en HCN) par kilogramme d'animal. Par contre, elle peut retarder, dans une certaine mesure, les accès convulsifs ainsi que la mort. La dose de 3 milligrammes de HCN tue en moyenne le lapin endéans sept minutes; lorsque le cyanure est injecté deux minutes après le chlorhydrate de morphine, la mort survient au bout de dix minutes (expér. I); celle-ci est retardée jusque près de une heure et même au delà de trois heures lorsque l'injection de cyanure a été faite respectivement trente-deux et trente-cinq minutes après l'injection de morphine (expér. IV et V). L'injection de cyanure étant pratiquée quarante et soixante minutes après l'administration de la morphine, la survie est notablement moindre et n'est plus que de dix-sept à dix-huit minutes seulement (expér. VI et VII).

Le retard de la mort pendant la première période de la narcose morphinique est dû peut-être en partie à un ralentissement de l'absorption de KCN par suite de la dépression circulatoire, et en partie à l'état narcotique des cellules nerveuses; la rapidité de l'absorption influence considérablement la toxicité de KCN, comme le démontre la différence de la dose mortelle, qui est chez le lapin de 0,40 à 0,43 mgr. en injection

intraveineuse(1) de 2 à 2,5 milligrammes en injection hypodermique(2) et de 4 milligrammes en administration stomacale(3). On comprend qu'ultérieurement le moment de la mort se rapproche de nouveau, attendu que la résistance de l'organisme peut diminuer à mesure que la narcose morphinique se prolonge.

Nous ferons remarquer ici que les symptômes si caractéristiques, véritablement pathognomoniques de l'intoxication par le cyanure, bien que se retrouvant dans les traits essentiels (vaso-dilatation du pavillon auriculaire, accélération des mouvements respiratoires avec ampleur exagérée de ceux-ci, paralysie, convulsions, arrêt respiratoire prolongé), sont en partie masqués par l'action de la morphine.

Action antitoxique du cyanure de potassium vis-à-vis du chlorhydrate de morphine. — Le cyanure exerce-t-il par contre quelque influence sur l'intoxication par la morphine, comme le suppose également HEIM(4)?

Pour résoudre expérimentalement cette question, nous avons donné de la morphine à dose sûrement mortelle endéans deux à trois heures (300 milligrammes par kilogramme d'animal), puis, lorsque l'intoxication morphinique était très manifeste et que nous pouvions admettre que la totalité de la morphine injectée était absorbée (après cinquante à soixante minutes), nous administrions, également par la voie sous-cutanée, une dose non mortelle mais notable de cyanure, soit 1,5 milligr. calculé en HCN.

Numéro d'ordre	Poids de l'animal en grammes	MORPHINE Quantité injectée		Intervalle	KCN Quantité injectée		— Survie. + Mort.	OBSERVATIONS
		en milligr.	par kilogr. d'animal		en milligr.	par kilogr. d'animal		
I.	915	274	300	Minut. 64	1,37	1,5	+	Narcose morphinique. Respiration ralentie. Parésie. 4 minutes après injection de KCN: accélération respiratoire, puis alternatives d'excitation et de dépression; 1 1/2 heure après : raideur; convulsions localisées, puis tétaniques, avec arrêt respiratoire prolongé; cris; mouvements convulsifs des narines. Mort 2 heures après injection de morphine, 56-57 minutes après injection de KCN.

(1) HEYMANS et P. MASOIN : Arch. de pharmacodyn., 1896, vol. III, fasc. 2-4, p. 362.

(2) LANG : Archiv f. exp. Pathol. u. Pharm., 1895, Bd. 36, p. 77.

(3) Id., ib., p. 86.

(4) HEIM : Loc. cit., p. 861.

Numéro d'ordre	Poids de l'animal en grammes	MORPHINE Quantité injectée		Intervalle	KCN Quantité injectée		— Survie. + Mort.	OBSERVATIONS
		en milligr.	par kilogr. d'animal		en milligr.	par kilogr. d'animal		
II.	1350	405	300	73	2,00	1,5	+	Narcose morphinique. 2-3 minutes après injection de KCN: excitation, puis alternatives d'excitation et de dépression ; 18 minutes après : convulsions cloniques et tétaniques, cris, arrêt respiratoire passager. Mort 2 h. 16 m. après injection de morphine. 1 h. 3 m. après injection de KCN.
III.	1380	414	300	50	2,07	1,5	+	Excitation. Cherche à se déplacer quelques min. après injection de KCN. 23 minutes après, convulsion tétanique brusque. Cris. Réflexe cornéen absent. Etat convulsif et respiration de plus en plus ralentie. Mort 1 h. 58 min. après injection de morphine. 38 minutes après injection de KCN.
IV.	1485	445	300	70	2,22	1,5	+	Narcose morphinique. Ralentissement respiratoire. 4 min. après KCN, respiration s'accélère, plus régulière. 14 min. après, 250 respirations environ à la minute, puis contraction tétanique subite avec arrêt respiratoire prolongé. Etat convulsif. Excitabilité manifeste jusqu'à la mort. La rétine est sensible à la lumière jusque 4 min. avant la mort (passage brusque de l'obscurité à la lumière détermine sur-le-champ une convulsion tétanique). Mort 2 h. 24 m. après injection de morphine. 1 h. 14 m. après injection de KCN.

Ainsi qu'il résulte des données consignées dans la colonne des observations, trois à quatre minutes après l'injection de la dose de 1,5 milligr. de HCN, donc avec un léger retard, il apparaît une période d'excitation : l'animal se déplace quelque peu, la respiration gagne en étendue et en fréquence; mais cet ensemble symptomatique ne cache de loin pas le fond d'intoxication morphinique sur lequel il repose : l'animal présente alternativement des symptômes d'excitation et de dépression; ceux-ci finissent par dominer la scène jusqu'au moment où subitement les convulsions apparaissent. Celles-ci sont le fait de l'intoxication morphinique, car le cyanure, à la dose indiquée, ne les provoque pas chez le lapin, comme nous avons pu nous en convaincre par des expériences spéciales.

Tous les animaux ayant succombé, le cyanure n'a donc non plus, *quoad vitam*, aucune influence sur l'intoxication par une dose mortelle de morphine.

Toxicité du chlorhydrate de morphine en injection hypodermique chez la souris blanche.

Expériences personnelles.						Expériences de Helm.						
Numéro d'ordre	Poids en grammes	Morphine, chlorhydrate en milligrammes: Quantité totale	Morphine, chlorhydrate en milligrammes: Quantité par kilogr. d'animal	— Survie + Mort	OBSERVATIONS.	Numéro d'ordre.	Poids en grammes	Poids rapporté à l'unité de poison.	Morphine, chlorhydrate en milligrammes: Quantité totale	Morphine, chlorhydrate en milligrammes: Quantité par kilogr. d'animal	— Survie + Mort	OBSERVATIONS.
I.	13,5	0,62	46	—		I.	21,5	1 : 21500	1,00	46	—	
II.	26,5	1,69	64	—		II.	18.3	1 : 18000	1,01	55	—	
III.	15,5	1,02	66	—		III.	19,0	1 : 15000	1,27	66	+	Après 83 h. 20 min.
IV.	19,5	1,95	100	—		IV.	23,0	1 : 11500	2,00	87	+	Après 72 heures.
V.	16,0	1,60	100	—		V.	20,0	1 : 10000	2,00	100	+	Après 45 heures.
VI.	16,0	2,40	150	—		VI.	19,0	1 : 5000	3,80	200	+	Après 20 heures.
VII.	16,5	3,30	200	—		VII.	18,0	1 : 2500	7,20	400	+	Après 17 heures.
VIII.	19,0	3,60	200	+	Après 12 h. maximum.	VIII.	23,0	1 : 1000	23,00	1000	+	Après 3 heures.
IX.	25,5	5,35	210	—		IX.	22,0	1 : 440	49,98	2273	+	Après 37 minutes.
X.	21,0	4,62	220	—		X.	18,0	1 : 180	99,99	5555	+	Après 40 minutes.
XI.	22,0	8,80	400	+	Après 11 1/2 h. maximum.							
XII.	28.5	14,25	500	+	Après 11 1/2 h. maximum.							

Toxicité du cyanure de potassium en injection hypodermique chez la souris blanche.

Expériences personnelles.						Expériences de Heim.						
Numéro d'ordre	Poids en grammes	KCN en milligrammes par kilogr. d'animal	Calculé en HCN en milligrammes par kilogr.	— Survie + Mort	OBSERVATIONS.	Numéro d'ordre	Poids en grammes	Rapport du poids à KCN = 1	Calculé en HCN en milligrammes par kilogr. d'animal.	HCN en milligrammes par kilogr.	— Survie + Mort	OBSERVATIONS.
I.	19	6,3	2,6	—		I.	26	1 : 50000	20	8	—	
II.	18	6,6	2,7	—		II.	20,5	1 : 40000	35	10	—	
III.	17	7,0	2,9	—		III.	27,5	1 : 30000	33	14	—	
IV.	17	8,8	3,6	—		IV.	21	1 : 21000	48	19	+	Après 262 minutes.
V.	19	9,4	3,6	—		V.	24,5	1 : 20000	50	21	—	
VI.	11,5	9,4	3,9	—		VI.	20	1 : 14286	70	29	+	Après 255 minutes.
VII.	17	10,5	4,4	—		VII.	12	»	77	32	+	Après 13 minutes.
VIII.	22	10,5	4,4	+	Après 22 h. 23 min.	VIII.	14	»	»	»	+	Après 22 minutes.
IX.	20	12	4,9	+	Après 11 minutes.	IX.	26	»	»	»	+	Après 22 minutes.
X.	14	12	4,9	+	Après 2 1/2 h. 3 min.	X.	19	»	»	»	+	Après 34 minutes.
XI.	18	12	4,9	+	Après 28 h. 29 min.	XI.	16,2	»	»	»	+	Après 5 minutes.
XII.	16	15	6,2	+	Après 14 minutes.	XII.	18	1 : 12857	»	»	+	Après 30 minutes.
						XIII.	15	1 : 10714	93	39	+	Après 2 minutes.
						XIV.	23,5	1 : 10000	100	41	+	Après 4 minutes.

Les expériences instituées sur le lapin, ayant donné des résultats contraires à ceux observés par HEIM sur la souris, nous avons tenu à les répéter sur ce dernier animal. Nous reproduisons, p. 100, d'une part les expériences de HEIM sur la toxicité de la morphine chez la souris, d'autre part nos expériences sur ce même sujet.

Comme le démontrent ces deux séries d'expériences, d'après HEIM, le chlorhydrate de morphine serait mortel chez la souris à partir de 66 milligr. par kilogramme d'animal, tandis que nous voyons survivre tous nos animaux à des doses inférieures à 200 milligr. par kilogramme.

Nous reproduisons d'autre part, p. 101, les expériences de HEIM sur la toxicité de KCN chez la souris ainsi que nos expériences sur ce même animal.

De ses expériences HEIM conclut que la dose sûrement mortelle de cyanure de potassium, calculé en HCN, est de 32 milligr. par kilogramme de souris, tandis que d'après nos expériences elle est au maximum de 5 milligr. Ce dernier chiffre concorde, du reste, avec la toxicité dûment établie par d'autres et par nous chez différents mammifères, tels que le lapin, le rat blanc, le chien, etc.

Mais quelle que soit la cause de ces différences de toxicité, — qui ne doivent pas nécessairement influencer la désintoxication, — nous avons continué nos expériences : nous en donnons ci-dessous le résumé à la suite de celles de HEIM :

Désintoxication du cyanure de potassium par le chlorhydrate de morphine chez la souris blanche.

A. — **D'après Heim.**

ACTION CURATIVE.

Numéro d'ordre	Poids en grammes	KCN en milligr. par kilogr. d'animal	HCN en milligr. par kilogr. d'animal	Intervalle entre les deux injections	Morphine, chlorhydrate en milligr. par kilogr. d'animal	— Survie. + Mort.	OBSERVATIONS.
				Minutes			
I.	24	77	32	4	55	+	Après 2 heures 24 minutes.
II.	27	»	»	»	»	—	
III.	18	»	»	»	»	—	
IV.	20	»	»	»	»	—	
V.	21	»	»	5	»	—	
VI.	26	»	»	»	»	+	Après 1 heure.
VII.	18	»	»	10	»	—	
VIII.	19	»	»	»	»	+	Après 16 minutes.
IX.	24	»	»	16	»	—	
X.	20	»	»	17	»	+	Après 3 heures 10 minutes.

B). — **Expériences personnelles.**

1. — ACTION CURATIVE.

Numéro d'ordre	Poids de l'animal en grammes	KCN en HCN		Intervalle entre les deux injections	Morphine, chlorhydrate		— Survie. + Mort	OBSERVATIONS
		Total en milligr.	par kilogramme d'animal		Total en milligr.	par kilogr. d'animal		
				Min.				
I.	14	0,070	5	1	2,10	150	—	(Erreur de dosage?)
II.	24	0,120	5	1 1/2	3,60	150	+	29 minutes après KCN.
III.	18	0,090	5	2	2,70	150	+	3 min. 30 sec. après KCN.
IV.	22,5	0,113	5	3	3,38	150	+	9 minutes après KCN.
V.	20,5	0,103	5	3-4	3,08	150	+	4 minutes après KCN.
VI.	14	0,070	5	4	2,10	150	+	4-5 minutes après KCN.
VII.	26	0,130	5	4	3,90	150	+	1 h. 6′ au minimum après KCN (1 h. 30′ au maxim.).
VIII.	15	0,075	5	4	2,25	150	+	8 m.-8 1/2 min. après KCN.
IX.	26	0,130	5	4	3,90	150	+	85 min. (minimum après KCN).

2. — ACTION PRÉVENTIVE.

Numéro d'ordre	Poids de l'animal en grammes	Morphine, chlorhydrate		Intervalle entre les deux injections	KCN en HCN		— Survie. + Mort	OBSERVATIONS
		Total en milligr.	par kilogr. d'animal		Total en milligr.	par kilogramme d'animal		
				Min.				
I.	25,0	3,75	150	4	0,125	5	+	35-36 minutes après inj. de KCN.
II.	14,5	2,18	150	4-5	0,073	5	+	28-29 » » »
III.	17,0	2,55	150	9	0,085	5	+	21 » » »
IV.	15,5	2,33	150	10	0,078	5	+	16-17 » » »
V.	22,0	3,30	150	14	0,110	5	+	13-14 » » »
VI.	20,0	3,00	150	15	0,100	5	+	26 » » »
VII.	19,5	2,93	150	16-17	0,098	5	+	1 h. 20′ à 2 h. 20′ après inj. de KCN.
VIII.	14,0	2,10	150	35	0,070	5	+	10 minutes » »

Nos expériences sur la souris confirment donc celles instituées sur le lapin : l'action curative de la morphine sur l'intoxication par le cyanure est nulle ; l'action préventive consiste seulement ici aussi en ce que les souris en narcose morphinique meurent un peu moins rapidement par le cyanure,

Enfin, même en mélangeant *in vitro* en proportions adéquates le chlorhydrate de morphine et le cyanure de potassium et en injectant ensuite le mélange après un contact plus ou moins prolongé, on ne diminue la toxicité ni de l'un ni de l'autre de ces poisons. Par conséquent, la morphine et le cyanure ne sont pas des antidotes ou des antagonistes ni simples ni réciproques.

Parmi les nombreux antidotes qui sont encore recommandés de nos jours (1) en cas d'empoisonnement par la morphine, se trouve le *permanganate de potassium* administré à l'intérieur ou en injection hypodermique. Les guérisons obtenues à l'aide de la seule injection seraient nombreuses à en juger d'après les publications de certains praticiens (2).

Il est parfaitement exact qu'une dose mortelle de morphine, par exemple 0,3 gr., additionnée d'abord *in vitro* d'une solution de permanganate, jusqu'à persistance de la coloration violette, peut ensuite être injectée au lapin sans provoquer la mort ni aucun symptôme d'intoxication morphinique. Reste à déterminer jusqu'à quel point le permanganate développe la même action *in vivo,* spécialement après absorption de la morphine. Pour des raisons sur lesquelles nous n'insisterons pas ici, nos expériences n'ont point porté sur le pouvoir antidotique du permanganate administré à l'intérieur, en cas d'empoisonnement morphinique par la même voie. Nous avons voulu vérifier simplement si, chez les animaux empoisonnés par une dose sûrement mortelle de morphine, donnée en injection hypodermique, l'injection consécutive de permanganate empêchait la mort de se produire, en d'autres mots, si le permanganate pouvait être considéré comme un contre-poison physiologique de la morphine, au même titre que les antitoxines vis-à-vis des toxines, les composés sulfurés

(1) Cfr. Manquat : Traité de thérapeutique, 1900, vol. II, p. 426.

(2) Ainsi Moor (New York medical Record, 2 mars 1895) cite quatre cas d'empoisonnement par la morphine dont il attribue la guérison à l'injection hypodermique de permanganate. Dans l'un de ces cas, il s'agit d'un jeune homme de 19 ans qui avait absorbé 43 grammes de laudanum et chez lequel l'injection hypodermique de 10 gouttes d'une solution de permanganate de potassium à 0,4 : 30 aurait amené la guérison complète au bout de six heures.

Des cas analogues ont été publiés par Walker (Brit. med. Journ., 11 janvier 1896); Carpentier (Therapeutic Gazette, mars, 1895); Doron (Ibid., juillet 1895); Suker (Ibid., août 1895); Rindfleisch (Deutsche med. Wochenschr., 24 novembre 1898).

D'après Torre (Revue médicale de Louvain, 1897) également, le permanganate de potassium injecté hypodermiquement produirait le même résultat que son administration à l'intérieur.

basiques ou plusieurs sels de métaux lourds vis-à-vis des poisons cyanogénés.

Lapin.

Numéro d'ordre	Poids de l'animal en grammes	Morphine, chlorhydrate par kilogr. d'animal en milligr.	Intervalle entre les deux injections en minutes	$KMnO_4$ par kilogr. d'animal en milligr.	— Survie. + Mort	OBSERVATIONS
I.	1550	300	22	1' 0	+	Narcose (convulsions). Mort après 1 heure 2 minutes.
II.	1070	300	34	100	+	Narcose (convulsions). Mort après 10 heures au minimum
III.	1820	300	45	134	+	Mêmes symptômes. Mort après 1 heure 47 minutes.
IV.	1450	300	60	100	+	Mêmes symptômes. Mort après 1 heure 24 minutes.
V.	882	300	84	100	+	Narcose (excitation passagère). Mort après 5 heures 31 minutes.

Ces expériences étaient terminées quand nous prîmes connaissance du travail de THORNTON et HOLDER, qui ont fait une étude analogue sur le chien(1). Nous avons contrôlé les expériences de ces auteurs. Elles confirment les nôtres chez le lapin.

En résumé, les expériences instituées sur le chien et sur le lapin démontrent avec la même évidence que, injectés séparément sous la peau, les deux poisons sont absolument sans action l'un sur l'autre : le permanganate développe son action locale caustique et la morphine, injectée à dose mortelle, tue avec les symptômes habituels. L'injection hypodermique de permanganate, en cas d'empoisonnement morphinique chez l'homme, doit dès lors être considérée comme inefficace, si pas comme nuisible. Son administration à l'intérieur ne méritera réellement la préférence sur les vomitifs ou la pompe stomacale que si l'on démontre que, même en milieu stomacal, le permanganate réagit sur la morphine et lui enlève sa toxicité.

(1) THORNTON et HOLDER : Therapeutic Gazette, Philadelphie, janvier 1898.

Jod und Jodoform, ihr Verhalten zu Eiweiss

VON

Dr Med. C. H. L. SCHMIDT, pract. Arzt
Ludwigslust i/Mecklenburg.

In neuerer Zeit ist von ALTENBURG (1) eine hochinteressante Arbeit, *über die Umwandlung des Jodoforms in freies Jod,* veröffentlicht worden, in welcher der Verfasser u. A. zu dem Schluss kommt, dass Urin, Blut und Eiter nicht im Stande sind, aus Jodoform Jod abzuspalten, wofern die von ihm angewandten Massnahmen genau beobachtet werden. Den gleichen Standpunkt vertritt R. KOBERT (2) in der Februarsitzung der naturforschenden Gesellschaft zu Rostock in einem Vortrage : *zur Pharmakologie und physiologischen Chemie des Jods und seiner Verbindungen,* insbesondere bestätigt er die ZEEHUISEN'sche Angabe (3), dass normales Blut bei Brütetemperatur Jod aus Jodoform nicht so abzuspalten vermag, dass es nach dem Aufkochen des Filtrates und Ansäuern mit verdünnter Salpetersäure Stärkekleister bläut. In den folgenden Versuchen, die mich — es sei bereits vorweg bemerkt — in directen Gegensatz zu ALTENBURG und KOBERT (4) bringen, unterzog ich die in Frage stehenden Verhältnisse einer eingehenden Nachprüfung, indem ich namentlich auf die Methodik des

(1) Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. VIII, fasc. I und II.

(2) Sitzungsberichte der naturforschenden Gesellschaft zu Rostock, 1 Februar 1901.

(3) *Ueber die Umwandlung des Jodoforms im Tierkörper.* Vortrag geh. in der Section für innere Medizin des 4ten niederländ. Kongr. f. Med. u. Heilkunde, 1893.

(4) Zu p. 13 des Vortrages möchte ich folgendes bemerken : Wenn ein Jodat allein mit einem Nitrit (plus Massenwirkung der CO_2 oder plus verdünnter H_2SO_4) in Berührung kommt, wird niemals das Jodat zersetzt, sondern nur bei Gegenwart eines Reductionsmittels wie HJ, oder Zinkstaub, oder eines Jodids.

Nachweises von Jod in eiweisshaltigen Flüssigkeiten und eiweisshaltigem Urin ein Hauptgewicht legte.

Bringt man in eine concentrierte Lösung von Eierklar (hergestellt durch starkes Schütteln von Eiereiweiss mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung und nachfolgendes Kolieren) etwas wässerige Jodlösung (einige Tropfen Jodtinctur in Wasser gelöst) von bestimmtem Gehalt, und zwar in 10 c.c. der Eiweisslösung 1 c.c. Jodlösung, so zeigt sich auf Zusatz von Stärke und salpetriger Säure deutliche Gelbfärbung der Mischung mit einem Stich ins Grünliche; diese Farbenveränderung ist keine modificierte Jodstärkereaktion, sondern, wie man sich durch einen weiteren Versuch unter Weglassung der Jodlösung leicht überzeugen kann, durch Einwirkung der salpetrigen Säure auf Eiweiss hervorgebracht. Deutliche und zugleich dauernde Reaktion, d. h. Ausfällung eines durch Jodstärke *blaugrau* gefärbten Niederschlages, tritt erst ein, nachdem etwa 20 c.c. Jodlösung zu dem Eiweiss hinzugefügt sind. Wird nun eine neue Probe dieser Eiweisslösung nach etwa fünffacher Verdünnung mit (jodfreier) 0,6 % NaCl in gleicher Weise mit Jod titriert, so zeigt sich bereits nach Zusatz von 2 c.c. deutliche Blaufärbung, die noch nach 24 Stunden sichtbar, jedoch unter Ausfällung eines feinflockigen Niederschlages stark abgeblasst ist. Hieraus geht hervor : die Empfindlichkeit der Jodstärkereaktion ist umgekehrt proportional dem Eiweissgehalt der Untersuchungsflüssigkeit; man muss also, um Jod durch Stärke in eiweisshaltigen Flüssigkeiten nachzuweisen, unter möglichster Schonung der jodhaltigen Verbindung das Eiweiss vollständig herausschaffen. Hierüber später.

Die Entfärbung von Jod oder Jodstärke durch Eiweiss bedeutet denselben chemischen Process; es findet eine Oxydation des Eiweissmoleküls statt in Form einer Hydroxylierung, indem ebenso wie bei Gegenwart von Schwefel(1) und analog der Oxydation des Aldehyds zur Säure das Eiweissmolekül ein Wasserstoffatom abgiebt, dafür aus dem stets vorhandenen Wasser ein Hydroxyl aufnimmt. Die Gegenwart von Wasser ist bei diesem Prozess notwendig, was daraus hervorgeht, dass Zusatz von Kochsalz zur Eiweisslösung in der richtigen Concentration die Entfärbung der Jodstärke verzögert. Versetzt man mehrere Proben, je 10 c.c. derselben Eiweisslösung mit je 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 gr. NaCl, fügt Stärkelösung hinzu und titriert vorsichtig mit Jod, so hält

---

(1) Rösing : *Untersuchungen über die Oxydation von Eiweiss in Gegenwart von Schwefel.* Inaug.-Dissert., Rostock, 1891.

sich bei gleicher Jodmenge die Blaufärbung am längsten in der 1,5 gr. NaCl enthaltenden Probe. Wie sich nun das Jod und die beiden in statu nascendi befindlichen (aus Wasser und Eiweiss herrührenden) Wasserstoffatome verhalten, ist eine vielumstrittene Frage. Ich neige zu der Ansicht, dass hier weiter nichts als Jodwasserstoffsäure entsteht, insbesondere dass das Jod nicht in das Eiweissmolekül eintritt, um etwa ein jodiertes Albumin zu bilden; schon die Leichtigkeit, mit der sich das Jod aus dem geronnenen Albumin beseitigen lässt (einfaches Ausschütteln mit Wasser), spricht gegen eine intramolekulare Bindung; eine solche tritt erst ein, wenn Jod im Ueberschuss längere Zeit mit Eiweiss gekocht wird (1 u. 2); es entsteht dann zunächst ein eigelbes, leicht filtrierendes Product, aus dem sich durch Schütteln mit Wasser kein Jod mehr extrahieren lässt : das klare Filtrat giebt schwache Jodsäurereaction, enthält grosse Mengen HJ, trübt sich stark mit Ferrocyankalium und Essigsäure, giebt mit Tannin starken Niederschlag und schöne Biuretreaktion (Ovomukoid); ferner spricht für meine Ansicht die grosse Affinität des Jods zum Wasserstoff in statu nascendi, wie sie sich ohne Weiteres aus folgenden Versuchen ergiebt :

1. Eine wässerige Jodlösung (wie oben), etwas jodwasserstoffhaltig, wird mit metallischem Zink versetzt; nach 6 Stunden ist noch keine vollständige Entfärbung eingetreten; ebenso verhält sich Jodstärke.

2. Die gleiche Jodlösung wird auf Zusatz von etwas Zinkstaub sofort entfärbt ; in gleicher Weise Jodstärke.

3. Eine schwach jodhaltige (also ganz schwefelwasserstofffreie) concentrierte Lösung von Jodwasserstoffsäure wird mit metallischem Zink versetzt; unter deutlicher Wasserstoffentwicklung tritt sehr rasch Entfärbung ein.

4. Bringt man bei Zimmertemperatur oder unter leichtem Erwärmen (Thermostat) reines Jod (Jod. resublim.) in concentrierte Eiweisslösung, so trübt sich diese; allmählich tritt an Stelle der alkalischen Reaktion die saure, in selben Masse nimmt auch die Eiweissfällung zu. Hört der Jodnachschub auf, wird also die Flüssigkeit vom Jod decantiert und sich selbst überlassen, so schwindet allmählich die gelbe Färbung, ebenso die Reaktion auf freies Jod und die Acidität, um einer neutralen und selbst alkalischen Reaktion Platz zu machen : die Basicität des Eiweismoleküls ringt sich wieder durch, wie ja auch die Neutralisierung einer Eiweiss-

(1) Hofmeister : *Untersuchungen über die Proteinstoffe*. Z. f. phys. Chem., XXIV, 1 u. 2.
(2) Kurajoff : ibid. Bd. XXVI, 5 u. 6.

lösung mit 1/10 Normalschwefelsäure bisweilen recht mühsam ist. Nach Zusatz von mehr Jod bleibt schliesslich, ohne dass freies Jod nachweisbar, die saure Reaktion von Bestand. Von der noch gelblichen (also freies Jod enthaltenden) Flüssigkeit werden nun zwei Proben entnommen, durch die eine A zwei Stunden lang Wasserstoffgas (rein, H_2S frei) hindurchgeleitet, die andere B zur Kontrolle daneben gestellt; dann auf freies Jod geprüft. B färbt sich mit Stärke dunkelviolett; A zeigt kaum Reaktion, deutlich stärkere Trübung als B. Das die Eiweissfällung bedingende Agens kann demnach nur eine Verbindung des Jods mit dem Wasserstoff, also HJ sein, wie sich auch durch die ganz intensive Blauschwarzfärbung auf Zusatz von salpetriger Säure darthun lässt. Ich bemerke hier, dass eine wässerige Jodlösung erst nach 4-stündiger Durchleitung von Wasserstoff eine nur ganz unbedeutende, aber doch deutliche Abschwächung der Farbe zeigte; in diesem Falle fehlte eben der Einfluss des nascierenden Wasserstoffs (wie bei Eiweiss). Durch diesen wird jedenfalls auch in letzter Linie der Schärfe der Jodstärkereaktion in wässerigen Flüssigkeiten überhaupt eine Grenze gesetzt. Weil eben die Dissociation des Wassers in Wasserstoff- und Hydroxyljonen äusserst gering, also nach der bekannten Oswald'schen Gleichung $ab = kc$, die Concentration des nicht dissociierten Anteils sehr gross ist, eignet sich die Jodstärkereaktion bereits zum Nachweis kleinster Jodmengen; dass diese Reaktion unendlich genau ist, wird eben durch das dissociierte Wasserstoffjon des Wassers verhindert.

5. Eine Suspension von Jodoform in Wasser wird mit Zinkstaub geschüttelt; das klare Filtrat giebt mit Stärke keine Reaktion, jedoch auf Zusatz von salpetriger Säure: schwarzblau, undurchsichtig.

6. Eine gleiche Jodoformsuspension wird in 2 Proben, A und B, abgeteilt; diese beiden Proben zu gleicher Zeit im Wasserbade bei 36°—50° 5 Stunden lang gehalten; durch die eine beständig Wasserstoffgas geschickt: B. Dann werden beide filtriert, A zeigt auf Stärke und salpetrige Säure keine Spur von Reaktion, jedoch nach Filtration und kurzem Erhitzen mit Zinkstaub deutliche Blaufärbung mit Stärke und Säure (Natriumnitrit plus verd. Schwefelsäure), enthielt also nur gelöstes Jodoform; B färbt sich bereits nach Behandlung mit Stärke und salpetriger Säure deutlich blau, ferner abermals nach Filtration und Reduction mit Zinkstaub: enthielt demnach Jodwasserstoff und gelöstes Jodoform.

Bringt man also Jod mit Eiweisslösung zusammen, so tritt durch die Wirkung der JH allmählich eine Ausfällung ein; jedoch habe ich auf diese Weise niemals eine vollständige Ausfällung des Eiweiss erzielen können (cfr. p. 109), selbst nicht durch mehrstündiges Kochen bei Jodüberschuss.

Auch war es mir nicht möglich, in der so behandelten Flüssigkeit nach Aussalzen des restierenden Eiweiss und Ovomukoids mit Ammoniumsulfat bei Siedetemperatur jemals Pepton nachzuweisen : die Biuretreaktion fiel selbst bei einem grossen Ueberschuss von Lauge an dem vorsichtig eingeengten Filtrat stets negativ aus, ebenso keine Tanninfällung. Hieraus schliesse ich, dass die Jodwasserstoffsäure unter den angegebenen Bedingungen nicht einen solchen Concentrationsgrad erreicht, der zur völligen Ausfällung bez. zur Bildung der nächsten Spaltungsproducte genügt.

Ein weiteres wichtiges, noch nicht genügend gewürdigtes Glied in der Kette der Erscheinungen ist die Bildung einer der Jodsäure ähnlich reagierenden Verbindung neben der Jodwasserstoffsäure, die ich bei Behandlung von Eiweisslösungen mit Jod unter gewissen Bedingungen niemals vermisste.

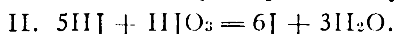
Versetzt man eine (alkalisch reagierende) Lösung von Eierklar mit 10 c.c. Jodlösung (wie oben), schüttelt tüchtig und enteiweisst durch Kochen unter Zusatz einiger Tropfen verdünnter Essigsäure, dann zeigt das abgekühlte Filtrat deutliche Rotviolettfärbung mit Stärke und Schwefelsäure, während andererseits die gleiche Eiweisslösung nach vorhergehender Neutralisierung mit 1/10 Normalschwefelsäure bei gleicher Behandlung nicht die geringste Farbenveränderung erkennen liess. Wurde zu gleich concentrierter Eiweisslösung Jod im Ueberschuss zugesetzt und gekocht, bis die Flüssigkeit kein freies Jod mehr enthielt, dann einige Tropfen Essigsäure hinzugefügt, aufgekocht, abgekühlt, filtriert, dann ergab das Filtrat nur wenig stärkere Reaktion mit Amylum und Schwefelsäure, auch nur Rotviolettfärbung. Nun erhöhte ich den Concentrationsgrad der Eiweisslösung, indem ich Albumin aus Eiweiss(1) (frei von Ovomukoid) in Wasser auflöste, kochte dann wie oben mit einem Ueberschuss von Jod, bis kein freies Jod mehr nachweisbar; dann färbte sich das enteiweisste Filtrat mit Stärke und Schwefelsäure deutlich hellblau.

Demnach ist die Bildung der jodsäureähnlichen Verbindung eine Funktion der basischen Energie des Eiweissmoleküls, weil sie eben proportional ist der Concentration des Eiweiss; oder : diese Verbindung ist ein Ausdruck für die Basicität des Eiweissmoleküls. Die gleiche Erscheinung konnte ich ausser bei Eierklar und Albumin aus Eiweiss auch bei Pepton.sicc., bei aus Eierklar hergestelltem Ovomukoid, bei dem

(1) Bezogen von Dr G. GRÜBLER, Dresden.

aschefreien HARNACK'schen Albumin beobachten. Es scheint hier eine allen Eiweisstoffen gemeinschaftliche Wirkung des Protaminkernes (KOSSEL: Arginin, Lysin, Histidin) vorzuliegen. Durch ein ähnliches Verhalten wird auch das Wasser als schwache Base charakterisiert: wird Wasser mit einem Jodkrystall gekocht, bis kein freies Jod mehr vorhanden, so färbt es sich auf Stärke und Schwefelsäure mattblau, diese Reaktion ist constant und weniger intensiv als bei concentriertem Eiweiss; wird aber die Wasserprobe schwach alkalisiert und dann mit Jod bis zur Jodfreiheit gekocht, so bildet sich neben Jodalkali gerade soviel jodsaures Kali, wie zur Oxydation des ersteren (nach Zusatz von Schwefelsäure) erforderlich; auf Stärkezusatz wird dann sämtliches Jod als Jodstärke erkennbar: blauschwarze Fällung bis zur Undurchsichtigkeit. Dieser Vorgang wird ohne Weiteres durch folgende Gleichungen erläutert:


I. $6NaOH + 6J = 5JNa + NaJO_3 + 3H_2O.$


II. $5HJ + HJO_3 = 6J + 3H_2O.$

Schwach angesäuertes Wasser ist nicht im stande, eine der Jodsäure ähnliche Verbindung in der oben beschriebenen Weise zu bilden. Beim Eiweiss wird die Stelle des Alkali durch den Protaminkern vertreten, es dokumentiert sich als eine etwas stärkere Base als Wasser. Hierin liegt die Bedeutung der obigen Verbindung. Diese kann nicht Jodsäure sein, da Jodsäure oder jodsaures Alkali neben freier Jodwasserstoffsäure in so geringen Spuren nicht bestehen kann, sondern nach Gl. II sofort durch HJ reduciert wird; es sei dann, dass man annimmt, die Concentration der HJ reiche (nach der Zersetzung des jodsauren Alkalis) nicht mehr zur Reduction der Jodsäure aus.

Nachdem dies vorausgeschickt ist, gehe ich zum Verhalten des Jodoforms zum Eiweiss, sowie zur Methodik des Nachweises des Jods und Jodoforms in Eiweisslösungen über; das Verständnis hierfür wird auf Grund der vorstehenden Darlegungen wesentlich erleichtert; können wir uns doch das Eiweiss als schwache Base vorstellen und hierin mit Recht die erste Ursache für die Spaltung des Jodoforms in Eiweisslösungen erblicken.

Ich behaupte, dass sämtliche Eiweisstoffe, die mit Jod behandelt, in der oben beschriebenen Weise, eine jodsäureähnliche Verbindung bilden, auch ohne Weiteres aus Jodoform Jod abspalten (bei Blutwärme und Lichtabschluss). Von zwei Jodoformwassersuspensionen wird die eine mit einigen Tropfen 1/10 Normalnatronlauge schwach alkalisiert; beide bleiben bei Lichtabschluss fünf Tage stehen; werden dann filtriert und zeigen auf Stärkezusatz keine Reaktion, auch nicht auf salpetrige Säure; wohl aber nach Reduction mit Zinkstaub, enthalten also nur Spuren von

gelöstem Jodoform. Dieselben Proben werden nun bei Blutwärme ins Wasserbad gebracht und darin 1 Stunde belassen, dann wieder auf Jod und HJ untersucht. Die schwach alkalisierte Probe zeigt auf Stärke keine Reaktion, färbt sich aber schwach rötlich auf Zugabe von salpetriger Säure, während die nicht alkalisierte Probe unter denselben Bedingungen keinerlei Veränderung zu erkennen giebt. Demnach ist der schwache Alkaligehalt die Ursache für die Jodoformzersetzung.

A. — Hühnereiweiss.

Zu Beginn dieser Abhandlung (p. 108) ergab sich, dass zwecks Nachweis von Jod in Eiweisslösungen in erster Linie eine möglichst vollständige Entfernung des Albumins aus der Untersuchungsflüssigkeit notwendig ist. Diesen Zweck zu erreichen, stehen verschiedene Wege offen; der gangbarste und beste, den wir auch im Folgenden stets einschlagen, ist : Aufkochen unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure (1), abkühlen lassen, filtrieren, dann Jodprüfung. Ein grosser Vorteil dieser Methode ist, dass nach der Untersuchung auf Jod und Jodwasserstoff noch eine solche auf Jodoform an der gleichen Probe vorgenommen werden kann; ein Nachteil, wenigstens bei Hühnereiweiss, der, dass trotz Aufkochen mit Essigsäure das Jodstärke in hohem Masse (man kann sich durch einen besonderen Versuch leicht hiervon überzeugen) entfärbende Ovomukoid in der Untersuchungsflüssigkeit verbleibt; Traubenzucker stört nicht, weil er in der schwachen Concentration nur ganz unbedeutend Jodstärke löst. Aussalzen mit Ammoniumsulfat eliminiert freilich ausser Eiweiss sämtliches Ovomukoid, giebt auch ein sehr gutes, aber doch etwas weniger genaues Resultat, weil das schwefelsaure Salz an sich die Jodstärkereaktion in geringem Masse abschwächt. Die Hofmeister'sche Methode : Kochen mit Natriumacetat und Eisenchlorid ist für den Nachweis von Jod allein sehr gut anwendbar; die Schlussprobe muss aber möglichst eisenfrei sein. Bei Hühnereiweiss entgehen also stets kleine Mengen Jod dem Nachweise (Ovomukoid), was auch folgender Versuch noch bestätigt :

20 c.c. etwa 25 °/₀ Hühnereiweisslösung werden mit 1 c.c. wässeriger Jodlösung versetzt : Probe A; die gleiche Jodmenge in 20 c.c. Wasser gegeben : B. A wird durch Kochen mit etwas Essigsäure enteiweisst, das Coagulum mit abgemessenen Mengen Wasser ausgewaschen und in gleicher Weise auch B mit Aq. dest. verdünnt. Beide Proben geben auf Stärke und salpetrige Säure deutliche Reaktion, jedoch ist B dunkler blau als A.

(1) Das von mir verwendete Jodoform, in Wasser suspendiert, spaltete bei vorsichtigem Aufkochen mit etwas Essigsäure niemals Jod ab.

Eine concentrierte Eiweisslösung wird mit einigen Centigr. Jodoform versetzt (die zur Verdünnung des Eierklar verwendete 0,6 % NaCl war zur Austreibung absorbierter CO_2 längere Zeit gekocht worden), tüchtig geschüttelt und langsam ein CO_2 freier (durch Kaliapparat und Natronkalkrohr) Luftstrom drei Tage lang bei Blutwärme hindurchgeleitet; ein den Schluss der Kette bildendes Barytröhrchen zeigte bereits am 2. Tage leichte Trübung, am 3. Tage mässige Ausfällung von $BaCO_3$. Demgemäss liess sich auch am 3. Tage eine starke Jodabspaltung nachweisen : eine filtrierte, schwachrötliche Probe wird wie üblich enteiweisst, nach dem Abkühlen filtriert; mit Stärke und Schwefelsäure negativ, auf salpetrige Säure schwarzblau; das Filtrat hiervon, J und JH frei, wird mit Zinkstaub gekocht, abgekühlt und mit Stärke u. HNO_2 schwachblau.

Die Jodoform-Eiweissmischung enthielt also etwas gelöstes Jodoform, ferner Jodwasserstoff; dieselbe Untersuchung wurde in Zwischenräumen von 4—6 Tagen noch drei Mal wiederholt : es zeigte sich eine allmähliche Cumulierung der JH, ein Mal vermisste ich das gelöste Jodoform, niemals war freies Jod oder Jodsäurereaktion nachweisbar, selbst nicht an einer Probe, die 8 Wochen unter Watteverschluss ruhig gestanden hatte : diese war stark getrübt (ausgefälltes Eiweiss), schwach rötlich gefärbt; der grösste Teil des Eiweiss noch ungefällt, wie die mit dem Filtrat vorgenommenen Eiweissreaktionen ergaben. Aus letzterem Grunde musste auch die Jodsäurereaktion ausbleiben, bez. so minimal sein, dass sie sich dem sicheren Nachweise entzog, ferner deshalb weil bei so geringer Jodconcentration und unter so wenig intensiven Versuchsbedingungen von einer tieferen Einwirkung auf die Basicität des Eiweissmoleküls nicht die Rede sein konnte. Einen weiteren Befund muss ich noch erwähnen, der, wenn auch negativ, doch mein besonderes Interesse aus später anzuführenden Gründen in Anspruch nahm : wenn ich, wie sich aus einer früheren Arbeit(1) ergiebt, Jodoform bei Luftzutritt auf 100°C erhitzte, liess sich regelmässig neben CO_2 Kohlenoxyd (doppelt so viel wie CO_2) gasanalytisch nachweisen; selbst wenn Platinmohr als Sauerstoffüberträger zugesetzt wurde, gelang mir dieser Nachweis in dem obigen Falle niemals, wenigstens wurde eine dem Barytröhrchen angeschlossene Palladiumchlorürlösung noch nach 14-tägiger Luftdurchleitung unverändert gefunden. Weiter muss ich noch auf eine Bemerkung von Kobert (l. c.) eingehen : die Wundmikroben zersetzen das Jodoform proportional ihrer

(1) C. H. L. Schmidt : *Ueber Jodoformnachweis und Jodoformzersetzung*. Archives internationales, Bd. VIII, I u. II, 1901.

eigenen Menge, das dabei freiwerdende Jod tötet sie dann ab. Da ich nun in der obigen Jodoform-Eiweissmischung nie freies Jod fand, andererseits aber, wenn auch erst nach Verlauf von drei Wochen, eine auffällige Abnahme der in dieser Mischung befindlichen, auf 10 % Fleischwasserpeptongelatine wachsenden Keime (ich habe hier nicht mit Reinkulturen von Wundmikroben gearbeitet, da in jedem einzelnen Falle deren Virulenz erst hätte festgestellt werden müssen) constatieren konnte, so muss ich, zumal Nährmaterial in Form des ungefällten Eiweiss in ausreichender Menge vorhanden war, als Ursache für diese enorme Verringerung der Keimzahl die allmähliche Anreicherung der Jodwasserstoffsäure innerhalb der Eiweissmischung bezeichnen.

B. — Blut.

Zur Untersuchung kam stets nur ganz frisches, möglichst steril in keimfreien Gefässen aufgefangenes (1) Rinderblut, ein Mal Aderlass-, sonst gemischtes Blut. Das Blut wurde mit Jodoform in Substanz versetzt, vorsichtig geschüttelt und auf 24 Stunden bei Blutwärme in den Thermostaten gebracht; dann erfolgte die erste Untersuchung; die nächsten in Zwischenräumen von 2 bis 3 Tagen. Und zwar wurde nach Herausnahme aus dem Brutschrank das Blut entweder mit 0,6 % Kochsalzlösung oder mit gesättigter Natriumsulfatlösung zu gleichen Teilen verdünnt, weil sonst wegen der hohen Eiweissconcentration ein befriedigendes Resultat nicht zu erzielen war. Die mit Na_2SO_4 halbgesättigten Proben blieben zur Absonderung des Plasma noch 24 Stunden bei Lichtabschluss stehen, dann wurde das Plasma abgehebert, filtriert, gekocht unter Zusatz von etwas Essigsäure, abgekühlt, filtriert und das klare Filtrat, wie üblich, auf Jod geprüft. Durch besondere Versuche hatte ich mich vorher überzeugt, dass mit Na_2SO_4 halbgesättigte Jodoformwassersuspension noch nach 5 Tagen weder Jod noch HJ enthielt, ferner dass auch kurzes Aufkochen derselben Suspension mit etwas Essigsäure das Jodoformmolekül intact liess, endlich dass bei absolut gleichem Jodgehalt eine halbgesättigte Natriumsulfatlösung auf Zusatz von Stärke genau die gleiche Jodstärkereaktion ergab wie eine wässerige Jodlösung; dieser Befund hatte sich nach 24 Stunden noch nicht verändert. Ebenso verhielt sich die physiologische Kochsalzlösung.

1. *Versuch* : 200 c.c. Rinderblut werden mit Jodoform versetzt und

(1) Herr Tierarzt GRAUMANN hieselbst hatte die Güte dies eigenhändig zu besorgen; ich danke ihm dafür auch an dieser Stelle.

zwei Tage bei Blutwärme aufbewahrt; nach Halbsättigung von 10 c.c. Blut, die der obigen wieder in den Thermostaten zurück zubringenden Blutmenge mittels steriler Pipette entnommen werden, mit Na_2SO_4 wird am 3. Tage filtriert, wie üblich enteiweisst, abgekühlt und mit Stärke geprüft; keine Reaktion; auf Zusatz von Schwefelsäure keine Reaktion, auf salpetrige Säure färbt sich die Flüssigkeit schwarzblau, noch durchsichtig; wird filtriert und, sobald J und JH frei, mit Zink reduciert : auf Stärke und salpetrige Säure deutlich blau. Das Blut enthielt also gelöstes Jodoform und Jodwasserstoffsäure. Nachdem es vier weitere Tage im Thermostaten gestanden, wird nochmals auf Jod untersucht. Die Jodwasserstoffsäure zeigt eine bedeutende Zunahme (schwarzblau, ganz undurchsichtig), Jodoform (in Lösung) geringe Abnahme, Jodsäurereaktion nicht vorhanden.

2. Frisches, jodoformiertes Rinderblut steht 24 Stunden im Thermostaten, wird dann (10 c.c.) mit Na_2SO_4 halbgesättigt; nach 4 Tagen wird Plasma in ausreichender Menge abgehebert, enteiweisst, nach dem Abkühlen filtriert; Stärke und salpetrige Säure bewirken deutliche Blaufärbung (bedeutend schwächer als 1); nach Zinkbehandlung abermals schöne Reaktion; das Blut enthält JH, CHJ_3 gelöst. Es wird in gleicher Weise noch drei Mal untersucht, nachdem es 6, 7 und 8 Tage lang im Thermostaten zugebracht und je 24 Stunden mit Na_2SO_4 vermischt geblieben war; ebenso wie sub 1 findet sich eine langsame Zunahme der JH, ein Schwanken des Gehalts an gelöstem Jodoform innerhalb geringer Grenzen, keine Jodsäurereaktion.

3. Frisches, steril aufgefangenes Rinderblut steht in zwei Proben, A und B, abgeteilt, mit Jodoform vermischt 24 Stunden im Thermostaten, wird dann mit Na_2SO_4 halbgesättigt und nach weiteren 24 Stunden filtriert.

Probe B (100 c.c.) hatte vorher 2 c.c. einer drei Tage alten, stark getrübten Bouilloncultur von Wundmikroben erhalten; der Infectionsstoff stammte aus einem tuberculösen Hautgeschwür mit stark unterminierten Rändern. Nach üblicher, genau gleicher Weiterbehandlung zeigen A und B auf Stärke und salpetrige Säure deutliche Blaufärbung, B etwas stärkere Reaktion als A. Ebenso verhielten sich zwei weitere Blutproben desselben Tieres, die während des Auffangens mit einer dünnen Lösung von oxalsaurem Kalium tüchtig geschüttelt waren. Das inficierte Blut zeigte stets stärkere Jodwasserstoffreaktion als das nicht inficierte, dafür aber fast gar kein gelöstes Jodoform. In beiden Fällen hatte sich die gleiche Menge Jodoform gelöst; in der inficierten Probe war die Zersetzung desselben rascher erfolgt als in der nicht inficierten. Ich bemerke noch,

dass die beiden vorstehenden, nicht inficierten Blutproben, mochten sie nach Halbsättigung mit Na_2SO_4 bei Zimmertemperatur und Lichtabschluss (wie oben geschehen) oder im Thermostaten 24 Stunden stehen, auf Zusatz von Stärke und HNO_2, sowie nach Reduction mit Zinkstaub sich nicht völlig übereinstimmend verhielten; die letzteren Proben glichen den mit Wundmikroben inficierten, jedoch war die Menge des gelösten Jodoforms ebenso gross wie bei den nicht inficierten Proben.

Das obige Blut (3) wird in Zwischenräumen von 2 Tagen noch zwei Mal untersucht; A und B zeigen allmähliche Anreicherung der HJ, B in stärkerem Masse als A, dafür enthält B kein gelöstes Jodoform, Jodsäurereaktion niemals nachweisbar.

4. Ein Kaninchen wird durch intraperitoneale Injection von in steriler 0,6 % NaCl suspendiertem Jodoform (2 gr.) vergiftet; und nach 1 Stunde, wo schon Lähmung der Hinterextremitäten, sowie starke Herabsetzung der Reflexerregbarkeit und Somnolenz eingetreten waren, verblutet. Das Blut wurde sofort untersucht, eine Probe nach Verdünnung mit der gleichen Menge 0,6 % NaCl, eine zweite Probe nach Zusatz von Na_2SO_4. Beide zeigten übereinstimmendes Verhalten : starke Jodwasserstoffreaktion (dunkelblaue Färbung fast bis zur Undurchsichtigkeit), keine Jodoform-, keine Jodsäurereaktion. Da nun unter den früher erwähnten Bedingungen aus dem Methanrest des Jodoforms Kohlenoxyd entstehen kann, da ferner das Bild der Kohlenoxydvergiftung und das der Jodoformvergiftung manche verwandte Züge bieten, wurde eine 3. Probe des Blutes auf CO untersucht. In zwei Fällen (1) von Jodoformvergiftung fiel diese Untersuchung negativ aus; es muss also der Gedanke, dass die Jodoformintoxication analog der Vergiftung mit Chloroform (2) (langdauernde Narkose) eine teilweise CO-vergiftung ist, ganz aufgegeben werden.

C. — Hydroceleflüssigkeit, Eiter, eiweisshaltiger Urin.

1. Eine Hydroceleflüssigkeit wird gleich nach der Punction mit Jodoform versetzt und 2 Tage bei Blutwärme hingestellt. Dann wird eine Probe filtriert, gekocht unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure, abgekühlt, filtriert. Dieses Filtrat giebt mit Ferrocyankalium keine Trübung mehr,

---

(1) Im ersten Fall hatten die Herr Professoren MATTHIESSEN und PFEIFFER in Rostock die grosse Güte, die Untersuchung auszuführen; im 2. Falle : Herr Professor MICHAELIS. Diesen Herrn sei auch hier mein Dank für ihr Entgegenkommen ausgesprochen.

(2) *Enthält das Blut normaler oder narkotischer Tiere Kohlenoxyd?* von M. NICLOUX. Biologie. Mémoires; T. 52, 8, III, 1901.

jedoch stets, wie auch bei allen Blutproben, mit Tannin schwache Fällung. Stärke und salpetrige Säure bewirken schwach rötliche Färbung, die Jodstärke wird abfiltriert; das Filtrat mit Zinkstaub gekocht, abgekühlt, filtriert, mit Stärke und salpetriger Säure behandelt: schwarzblau. Jodsäure nicht nachweisbar. Die Hydrocelenflüssigkeit enthält also nach 2tägiger Einwirkung auf Jodoform nur Spuren von Jodwasserstoff, dagegen im Vergleich zum Blut relativ viel gelöstes Jodoform. Nach 12 Stunden wird von neuem untersucht, HJ hat um ein Geringes zugenommen (rotviolette Färbung), Jodoform abgenommen (dunkelblau, gut durchsichtig); zu gleicher Zeit wird durch eine neue Probe der Hydrocele : reines Wasserstoffgas 3/4 Stunde hindurchgeleitet; durch Kochen mit Essigsäure die Probe enteiweisst, das Filtrat zeigt auf Stärke und HNO_2 dunkelblaue Färbung, also bedeutende Anreicherung der HJ.

Innerhalb der nächsten 10 Tage findet noch 5 Mal wie oben eine Prüfung der Hydroceleflüssigkeit statt; es zeigt sich ein ganz allmähliches Anwachsen der HJmenge bei stets gleichem Gehalt an gelöstem Jodoform, jedoch wird durch diese Eiweisslösung das Jodoform zwar leicht gelöst, aber viel langsamer als durch Blut zersetzt. Ebensowenig konnte ich auf Zusatz von Bouilloncultur von Wundmikroben (wie bei Blut) eine Beschleunigung der Jodoformzersetzung feststellen.

2. *Eiter* (aus einem furunkulösen Abscess) wird mit Jodoform versetzt und, weil sehr dickflüssig, mit dem gleichen Volumen steriler 0,6 % NaCl-lösung, tüchtig geschüttelt, bleibt 24 Stunden im Thermostaten, wird nach dem Abkühlen filtriert, und mit einigen Tropfen Essigsäure gekocht, nach dem Abkühlen filtriert, auf Zusatz von Stärke und H_2SO_4 keine Reaktion, von Stärke und HNO_2 dunkelblaue Färbung; das Filtrat hiervon zeigt nach Reduction mit Zink mattblaue Färbung. Derselbe Eiter wird nach abermals 24-stündigem Aufenthalt im Thermostaten auf Jod untersucht; die bezüglichen Reaktionen sind : HJ schwarzblau, fast undurchsichtig, CHJ_3 deutlich blau. Dieser Eiter vermag also aus Jodoform sehr rasch Jod abzuspalten.

Eiter (aus einem carbunkulösen Abscess) wird ganz frisch mit Jodoform versetzt, tüchtig geschüttelt und unverdünnt 24 Stunden im Thermostaten aufbewahrt; dann mit physiologischer Kochsalzlösung aufs doppelte Volumen gebracht, filtriert und mit Essigsäure gekocht; das Filtrat färbt sich auf Behandlung mit Stärke und HNO_2 dunkelblau und ist fast undurchsichtig; wird wieder filtriert und mit Zinkstaub reduciert : auf Zusatz von Stärke und salpetriger Säure : deutliche Blaufärbung. Also auch hier rasche Jodoformzersetzung durch Eiter.

Eiter (aus einem Empyem der Pleurahöhle nach Polyarthritis(1)) wird, mit Jodoform versetzt, A innerhalb der ersten 12 Stunden öfter aus dem Brutschrank herausgenommen und umgeschüttelt, bleibt dann 12 Stunden ruhig stehen, während welcher Zeit sich ein grosser Teil des Eiterserums von den Leukocyten gesondert und über diesen als grünliche, leicht getrübte Flüssigkeit angesammelt hat. Nach dem Abkühlen wird dieselbe abgehebert und zwei Mal filtriert, dann gekocht unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure, nach Abkühlen filtriert. Das unverdünnte Filtrat färbt sich mit Stärke und salpetriger Säure rotviolett, auf Zinkzusatz deutlich blau, enthielt also Jodwasserstoffsäure und gelöstes Jodoform; ich bemerke, dass jenes Filtrat auf Ferrocyankalium und Essigsäure minimale Trübung, auf Tanninzusatz dickflüssige Fällung zeigte, schöne Biuretreaktion, mit Alkohol im Ueberschuss feinflockige Fällung, Millon's Reaktion (purpurrot) und keine Kupfer- oder Wismuthreduction nach Kochen mit verdünnter Salzsäure, ferner starke Fällung mit Phosphorwolframsäure, basischem Bleiacetat, leichte Trübung mit Salpetersäure (im Ueberschuss löslich) gab, also stark peptonhaltig war; da Pepton Jodstärke bis zu einem gewissen Grade löst, müssen wir uns die obigen Jodreaktionen noch etwas intensiver vorstellen. Drei Stunden später als die obige Probe wird reines Eiterserum, B, das sich nach dieser Zeit in genügender Menge angesammelt hat, mit Jodoform versetzt in den Thermostaten gebracht, bleibt hier 24 Stunden und wird dann genau so weiter behandelt wie A. Auch hier sind die Reaktionen auf JH deutlich, etwas schwächer als bei A, auf CHJ_3 ebenso. Probe A und B werden, nachdem sie im ganzen zwei Mal 24 Stunden bei Blutwärme gestanden, in derselben Weise nochmals auf Jod geprüft. B zeigt dieselbe Reaktion wie bei der ersten Untersuchung (schwach rotviolett, auf Zink blauviolett), dagegen wird Filtrat von A auf Stärke und salpetrige Säure hellblau ohne violetten Schimmer, auf Zinkstaub noch intensiver blau, giebt also in beiden Fällen stärkere Jodreaktionen als zuerst. Demnach muss ich den Formelementen des Eiters eine grössere jodabspaltende Kraft beimessen als dem Eiterserum an sich. In beiden Fällen zeigen die Filtrate auf Ferrocyankalium und Essigsäure langsam eintretende Opalescenz, auf Tannin dickflüssige Fällung, ferner auf Halbsättigung mit Ammonsulfat schwache

(1) Wurde mir von Herrn Professor Graser, Rostock, gütigst übersandt; diesem Herrn sowohl wie dem Herrn Dr Langemak (Assistenzarzt an der chirurg. Klinik) für seine gütigen Mitteilungen über den Ursprung des Eiters besten Dank. Der Eiter kam 24 Stunden nach der Operation zur Untersuchung.

Trübung, die auf Zusatz des Ammon bis zur Sättigung in starke Fällung übergeht: enthalten also neben Pepton Spuren von primären, grössere Mengen von secundären Albumosen. Kleinste Mengen von JH würden sich also auch hier dem sicheren Nachweise entziehen.

3. *Eiweisshaltiger* Harn (Mitralinsufficienz mit Compensationsstörung, Stauungsniere) wird mit Jodoform versetzt, 9 Tage im Thermostaten aufbewahrt und dann nach Filtration in folgender Weise untersucht:

α) Eine Probe wird gekocht unter Zusatz von etwas Essigsäure, abgekühlt, filtriert; das Filtrat färbt sich bei Behandlung mit Stärke und salpetriger Säure grünlich (auf Jodzusatz nicht bleibend blau); wird wieder rasch filtriert und mit Zink gekocht, abgekühlt; auf Stärke und salpetrige Säure entsteht hellblaue Färbung.

β) Eine zweite Probe wird sogleich mit Zink und Essigsäure gekocht, nach dem Abkühlen filtriert; färbt sich auf Behandlung mit Stärke und salpetriger Säure dunkelblau, ist noch soeben durchsichtig.

γ) Eine dritte Probe wird unter Zusatz von etwas Essigsäure gekocht, dann, ohne filtriert zu sein, mit Zinkstaub versetzt, gekocht, abgekühlt, filtriert: auf Stärke und HNO_2 genau so wie β.

δ) Eine 4. Probe wird mit Stärke und HNO_2 behandelt (keine deutliche Reaktion), rasch filtriert und das Filtrat sogleich mit Zinkstaub gekocht (und Essigsäure), abgekühlt, filtriert. Stärke und HNO_2 bewirken nur ganz hellblaue Färbung wie bei α.

ε) Eine 5. Probe kochte ich mit HNO_2 ($KNO_2 + H_2SO_4$); dieselbe blieb klar, wurde mit Zn versetzt, gekocht, abgekühlt, filtriert, Stärke und HNO_2: dunkelblau, noch soeben durchsichtig, wie β und γ.

Trotzdem der Urin (cfr. δ) keine Jodstärkereaktion zeigte, wurde doch durch Behandlung mit Stärke und HNO_2 und *rasch* folgende Filtration ein grosser Teil des Jods beseitigt; der Urin enthielt also HJ bez. Haloidsalze; ob die erst durch Zink reducierbare Jodverbindung Jodoform oder andere organische Jodverbindung war, kann ich zur Zeit nicht bestimmt feststellen, doch sind darüber weitere Untersuchungen im Gange.

Eiweissharn (desselben Ursprungs, frische Probe) wird nach Zusatz von Jodoform zwei Tage bei Blutwärme hingestellt, abgekühlt und filtriert. Das Filtrat wird

α) Sogleich mit Stärke und HNO_2 behandelt: violettrot, rasch filtriert; dieses Filtrat, mit Zink und Essigsäure gekocht, filtriert, färbt sich mit Stärke und HNO_2 dunkelblau, durchsichtig;

β) Sofort mit Zink und Essigsäure gekocht, auf Stärke und HNO_2 dunkelblau, kaum noch durchsichtig, dunkler als α;

γ) Mit Essigsäure gekocht, filtriert, abgekühlt, auf Zusatz von Stärke und HNO_2: hellblau; filtriert, mit Zink gekocht, abgekühlt, filtriert, auf Zusatz von Stärke und HNO_2 : deutlich blau.

Auch dieser Urin hatte innerhalb 2 × 24 Stunden Jodoform zersetzt; es war HJ oder deren Salze nachweisbar; ferner eine durch Zink zu reducierende Jodverbindung.

Das gleiche Verhalten zeigte normaler Urin, der innerhalb 6 Tagen (Aufbewahrung bei Blutwärme) zwei Mal untersucht wurde, das erste Mal nach 2 × 24 Stunden; auch hier war ein allmähliches Anwachsen der HJ zu constatieren, also eine progressive Jodoformzersetzung. Der Harn des mit Jodoform vergifteten Kaninchens (cfr. p. 117) enthielt so enorme Mengen HJ, dass er sich auf Zusatz von Stärke und HNO_2 schwarz färbte und ganz undurchsichtig wurde.

Das Resultat meiner Arbeit bringe ich in folgende Sätze :

1) Die Zersetzung des Jodoforms in eiweisshaltigen Flüssigkeiten wird eingeleitet durch die Basicität (intramolekulare basische Energie, Hexonkern) des Eiweissmoleküls.

2) Behandelt man Eiweiss oder dessen nächsten Spaltungsproducte : Albumosen, Peptone; ferner Mukoide (Ovomukoid) mit Jod im Ueberschuss (bei Siedetemperatur, bis zur völligen Austreibung des freien Jods), so bildet sich stets eine der Concentration der betr. Lösung proportionale Menge einer der Jodsäure ähnlich reagierenden Verbindung (auch bei aschefreiem Harnack'schem Eiweiss); diese ist ein zuverlässiger Indikator für die Basicität des Eiweissmoleküls.

3) Jod in statu nascendi (cfr. 1) entzieht dem Eiweissmolekül, ferner, wenn auch in weniger ergiebiger Weise, dem stets vorhandenen Wasser Wasserstoff; auf Kosten des Wassers hydroxyliert sich das Eiweiss, daneben entsteht Jodwasserstoffsäure. In wie weit sich das hydroxylierte Eiweiss von dem gewöhnlichen unterscheidet, ob es dem Oxyprotein von SCHULZ(1) nahesteht, bleibt einer späteren Untersuchung vorbehalten.

4) Blut, Eiter, Hydroceleflüssigkeit, eiweisshaltiger (und normaler) Urin (sowie Hühnereiweisslösung, Ovomukoid) spalten bei Blutwärme aus Jodoform stets Jod ab. Dieser Prozess wird bei Blut durch biologische Einflüsse befördert.

Ludwigslust i/M, Juny 1901.

(1) Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XXIX, Heft 1.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Breslau
(Direktor : Professor Dr. Filehne).

Das Wesen der genuinen und künstlichen Vogelgicht und deren Beziehungen zur Arthritis urica des Menschen

von

F. BANNES,
Arzt in Breslau.

Einleitung.

Unter der Bezeichnung « Künstliche Vogelgicht » existiert ein Krankheitsbild, das von verschiedenen Forschern in verschiedener Weise und zu verschiedenen Zwecken hervorgerufen worden ist.

Galvani (1) fand 1766 bei der Sektion einer Henne, welcher er einige Tage zuvor beide Ureteren unterbunden hatte, « um mittels eines neuen Injektionsverfahrens den feineren Bau der Niere kennen zu lernen, » alle serösen Häute mit eigentümlichen weisslichen Auflagerungen *alba terrestris materia* bedeckt und die Nieren strotzend gefüllt mit der gleichen Masse, die er als den festeren Bestandteil des Urins deutete. Später fand Zalesky (2), der zwecks Untersuchung über die Bildung der Harnsäure im Organismus die gleiche Operation an Hühnern machte, nicht nur dasselbe, sondern auch noch öfter, besonders bei älteren Tieren und solchen, die nach der Operation noch verhältnismässig lange am Leben erhalten worden waren, Uratablagerungen in den Gelenken und auch in dem Parenchym der Leber, der Lunge, des Herzens und anderer Organe. Derselbe Befund wurde von anderen Forschern gemacht, welche zu demselben Zweck Hühner in der gleichen Weise operierten, wie Chrzonsczewsky (3), Colasanti (4), v. Schroeder (5) und Pawlinoff (6); letzterer arbeitete an Tauben. Das gleiche Resultat wurde von einem Teil

dieser Forscher auch durch die Exstirpation der Niere (PAWLINOFF, v. SCHROEDER, ZALESKY) oder Unterbindung der Nierengefässe (PAWLINOFF), resp. Unterbindung der Aorta und vena cava (v. SCHROEDER) bei den genannten Vögeln erzielt. Dass die Versuche auch bei Schlangen mit demselben Erfolg angestellt wurden, sei hier nebenbei erwähnt.

Während alle diese Versuche nur den Zweck des Studiums der Harnsäurebildung im Organismus verfolgten, und der pathologisch-anatomische Organbefund nur nebensächlich behandelt wurde, benützte EBSTEIN (7), die Eigentümlichkeit des Vogelorganismus, in der geschilderten Weise auf die Ausschaltung der Nierenthätigkeit zu antworten, zu dem Studium des Verhaltens der Gewebe gegenüber Harnsäureablagerungen, um in der Erforschung des Wesens der *menschlichen Gicht* einen Schritt weiter zu kommen. EBSTEIN stellte seine Versuche an Hähnen an, teilweise mit Unterbindung beider Ureteren, teilweise injicierte er kleine Dosen von neutralem chromsauren Kali, um dadurch eine Degeneration des Nierenepithels zu erzeugen und so ebenfalls die Niere funktionsunfähig zu machen. Während die mit Ureterenunterbindung operierten Tiere gewöhnlich nicht länger als 24 Stunden lebten, konnte er seine Hähne bei vorsichtiger subkutaner oder intramuskulärer Injektion — mit gelegentlichem, manchmal tagelangen, Aussetzen der Beibringung — bis zu 5 Wochen am Leben erhalten.

Er stellte nun fest, dass diese Tiere pathologisch-anatomisch gleiche Befunde boten, wie sie bei der menschlichen Gicht erhoben werden konnten. Als solche charakteristische Merkmale der Vogel- und Menschengicht führte er an 1. nekrotische Herde in verschiedenen Organen, wie Gelenkknorpel, Niere, Leber, Herz, Lunge, Muskel, 2. Harnsäureablagerungen in den nekrotischen Organpartieen, 3. eine reaktive Entzündung in der Umgebung derartiger Herde. Im Uebrigen boten seine Tiere völlig das schon beschriebene Bild der « Vogelgicht », wie die früheren Forscher es gefunden hatten. Dabei fiel auf, dass die Tiere alle beobachteten Erscheinungen, insbesondere die Harnsäureablagerungen auf den serösen Häuten und in den Organen, um so ausgebildeter zeigten, je länger sie nach dem die Krankheit verursachenden Eingriff am Leben erhalten wurden.

Ganz ähnliche Befunde erzielten in neuerer Zeit v. KOSSA (8) an Tauben durch subkutane Injektion von Oxalsäure, Carbol, Rohrzucker (9), Traubenzucker, Aceton, Aloin und Sublimat, sowie LIKHATSCHEFF (10) und SCHREIBER und ZAUDY (11) durch Ureterenunterbindung an Hühnern und Tauben, endlich RICHTER (12) durch Chromsäureeinspritzung bei Tauben.

Schon Ebstein weist darauf hin, dass die Verwendung gerade der Vögel zur Anstellung von Versuchen, welche das Studium der Harnsäurebildung im Tierkörper bezwecken, eine recht naturgemässe sei, da ja der Vogelorganismus am meisten Harnsäure bilde. Es liegt jedoch andererseits gerade in der Verwendung von Vögeln zu derartigen Versuchen ein Uebelstand, wenn es sich um die Parallelstellung der Vogel- und Menschengicht handelt. Denn die Harnsäure ist das hauptsächlichste Endprodukt des N-Stoffwechsels im Vogelorganismus, und die geschilderte Anordnung der Versuche führte in jedem einzelnen Falle, nur jedesmal in anderer Modifikation, lediglich eine Ausschaltung der Nierenthätigkeit herbei und verhinderte die Ausfuhr der Harnsäure. Dass dies zu einer Uratstauung im Körper und weiterhin zu Uratablagerungen in verschiedenen Organen führt, ist eine natürliche Folge. Man kann jedoch diesen Zustand kaum als einen der menschlichen Gicht analogen bezeichnen, wie Ebstein dies gethan hat. Beim Menschen würde diesem Zustande vielleicht die Urämie entsprechen, mit welcher die Erkrankung *klinisch* ja auch entschieden viele Berührungspunkte hat, nicht aber die Gicht, mit welcher sie zufällig die Ablagerung von harnsauren Salzen in inneren Organen und Gelenken gemeinsam hat.

Es giebt nun aber thatsächlich auch eine sogenannte genuine oder idiopathische Vogelgicht, die besonders bei fleischfressenden Vögeln vorkommt. In der mir zugänglichen Litteratur habe ich keinen Anhaltspunkt dafür gefunden, ob diesbezügliche pathologisch-anatomische Untersuchungen bereits veröffentlicht worden sind. Dies soll in der vorliegenden Arbeit geschehen, und es soll festgestellt werden, inwiefern sich diese Geflügelkrankheit pathologisch anatomisch von dem Zustande der beschriebenen künstlichen Uratstauung unterscheidet. Es dürfte dieser idiopathischen Vogelgicht nicht ein primärer die Nieren destruierender Prozess zu Grunde liegen, sondern es müssten, ebenso wie bei der Menschengicht, wenn es sich um einen analogen Krankheitsprocess handelte, Organveränderungen, besonders ernstere Nierenerkrankungen, welche die Uratablagerungen wieder auf Stauung zurückführen und daher als selbstverständlich erscheinen lassen, fehlen.

Als die Ursache der Arthritis urica des Menschen ist unbedingt eine Stoffwechselstörung anzusehen. Grösstes Interesse beanspruchen daher die Versuche, auch bei Hühnern durch Einwirkung auf den Stoffwechsel einen gichtähnlichen Zustand hervorrufen. Derartige Versuche liegen aus der neuesten Zeit vor. Kionka (12) fütterte eine Reihe von ausgewachsenen Hühnern unter Entziehung jeder anderen Nahrung lediglich mit täglich

150 gr. Fleisch und liess sie dazu beliebig viel Wasser trinken. Auf diese Weise gelang es ihm, einen sich durch Monate hinziehenden *gichtähnlichen* Krankheitsprocess zu erzeugen. Alle Hühner erlitten in längerer oder kürzerer Zeit eine starke Schädigung ihres Stoffwechsels. Die angestellten Untersuchungen ergaben nicht nur, dass die Harnsäureausscheidung — der vermehrten Eiweiszufuhr entsprechend — bedeutend vermehrt war und fast aller Stickstoff als Harnsäure abgegeben wurde, sondern die Tiere befanden sich auch nicht im Stickstoffgleichgewicht, vielmehr büssten sie von dem Körperstickstoff immer mehr ein. Diese Befunde erklärten hinreichend den immer mehr zunehmenden Verfall der Tiere, die endlich in dekrepidem Zustande nach 2—5 Monaten eingingen. Entzündungen an den Gelenken mit und ohne Tophusbildung wurden bei mehreren der Versuchstiere, ebenso wie Behinderung in der Beweglichkeit der Gelenke, schon intra vitam beobachtet. Die Befunde bei der Sektion der Tiere entsprechen dem klinischen Bilde. Es fanden sich schwere Gelenkveränderungen entzündlicher Natur mit und ohne Ablagerungen harnsaurer Salze und Ablagerungen von Uraten auf den serösen Häuten. Auch die inneren Organe zeigten bei mikroskopischer Untersuchung Veränderungen; diese liessen indessen mangels einer genauen systematischen Untersuchung vorläufig noch keinen endgültigen Schluss zu. Herr D[r] Kionka veranlasste mich daher eine solche genauere Untersuchung vorzunehmen und übergab mir die in 4 % Formalinlösung aufbewahrten Organe.

Es wird also u. a. auch Gegenstand dieser Arbeit sein, die histologischen Befunde in den Organen der Hühner dieser Versuchsreihe bekannt zu geben, resp. zu ergänzen und die pathologischen Veränderungen gegenüber den Befunden von Controluntersuchungen zu besprechen. Weiterhin sollten die Befunde auch verglichen werden mit den pathologisch-anatomischen Befunden bei genuiner Vogelgicht.

Es ist mir durch die Liebenswürdigkeit des Herrn D[r]. Klee, Inhabers des Laboratoriums für Geflügelkrankheiten in Leipzig, möglich geworden, 3 Fälle von *genuiner Vogelgicht* zu obduzieren und histologisch zu untersuchen. Die Tierleichen wurden durch die Post nach Breslau geschickt, und bei der strengen Kälte des Winters 1900/1901 war es möglich, dass die Obduktion hier stattfinden konnte, ehe makroskopische Zeichen von Fäulnis aufgetreten waren. Ueber das klinische Bild der Krankheit, an welcher die Tiere zu Grunde gegangen waren, konnte ich leider nichts erheben, auch über die Zusammensetzung des Futters war es nicht möglich, Bemerkenswertes zu erfahren.

I. Untersuchungsmaterial.

Meine Untersuchungen erstreckten sich also:

1) Auf die pathologisch-anatomische Untersuchung der Hühner, welche an genuiner Gicht zu Grunde gegangen waren, und die mikroskopische Untersuchung der Organe dieser Tiere, besonders Leber, Niere, Milz, Herz, Lunge.

2) Von den fleischgefütterten Hühnern KIONKA's kamen zur Untersuchung von 7 die Nieren und von 5 die Lebern.

Ausserdem wurden einige Controluntersuchungen angestellt:

3) Es wurde eine ältere Henne (Endgewicht: 1450 gr.) 3 Wochen lang mit Gerste, Weizen und Brot gefüttert. Die Möglichkeit der Aufnahme anderer, besonders auch N-reicher, Stoffe wurde völlig ausgeschaltet durch Einsperren des Tieres in einen grossen (bei KIONKA, l. c., p. 189 beschriebenen) Flugkäfig, da die Organe dieser Henne als Muster normaler Hühnerorgane bei gewöhnlicher fleischfreier Kost dienen sollten. Die Henne verhielt sich stets normal, frass gut und nahm während der Beobachtungszeit 100 gr. an Gewicht zu.

Unsere domestizierten Haushühner sind nun allerdings nicht mehr als reine Körnerfresser anzusehen; das Geflügel verzehrt auf dem Hühnerhofe eine Masse von Würmern, Käfern u. dergl., sowie andere Substanzen unkontrollierbarer, vielleicht auch N-reicher Zusammensetzung, die im Laufe der Zeit ihren Einfluss auf die Organe sehr wohl ausüben können, so dass man eigentlich gezwungen ist, kein auf dem Hühnerhofe lebendes Huhn von vorne herein als normal anzusehen. Um nun auch diese mannigfachen Einflüsse eines vielgestaltigen Lebens möglichst zu erkennen wurde

4) eine ganz junge Henne (Anfangsgewicht: 500 gr.) längere Zeit hindurch (7 Wochen) unter denselben (in 3 genannten) Bedingungen gefüttert. Auch sie machte stets einen normalen Eindruk. Beide Tiere wurden durch Verbluten getötet, obduziert, Niere und Leber wurden genauer mikroskopisch untersucht.

5) Endlich wurden bei 3 Haushennen, die während kurzer Beobachtungszeit normal erschienen, beide Ureteren von der Bauchhöhle aus unterbunden. Die Operation führte Herr Dr. BIEBERFELD aus, dem ich auch an dieser Stelle hierfür meinen besten Dank ausspreche. Nach 16—28 Stunden wurden die Hühner durch Verbluten getötet und sofort obduciert; von der einen, welche die im Frage kommenden Erscheinungen ganz besonders charakteristisch bot, wurden Leber und Niere genauer mikroskopisch untersucht, während die der beiden anderen nur einer

oberflächlichen mikroskopischen Untersuchung in Gefrierschnitten unmittelbar nach der Sektion unterworfen wurden.

Die Organe der fleischgefütterten Hühner übernahm ich von Herrn Dr. Kionka in 4 % Formalinlösung aufbewahrt. Bei der Conservierung der frischen Gewebe musste auf die zu erwartenden Harnsäureniederschläge Rücksicht genommen werden. Da Harnsäure, wie in neuester Zeit His und Paul (13) erst wieder nachgewiesen haben, in Wasser, wenn auch nur in geringem Verhältnis, löslich ist, Alcohol dagegen Harnsäure nicht löst, so wurden die anderen frischen Organe sofort nach der Obduktion teilweise in 96 % Alcohol eingelegt. Um aber auch geeignete Objekte für die Beurteilung der geweblichen Veränderungen zu erhalten, wurde der Rest der Organe in 4 % Formalinlösung eingelegt.

Während über die kranken Tiere ausführlich berichtet werden soll, werde ich die Befunde an den normalen Tieren nur dort angeben, wo es zum Vergleich erforderlich ist.

II. Histologische Untersuchungsmethode.

Wie bei der Conservierung der Organe, so musste auch bei ihrer Einbettung, Zerlegung, dem Auflegen und der Färbung den Löslichkeitsverhältnissen der Harnsäure Rechnung getragen werden.

Zum Zwecke des Schneidens wurden Teile der Organe je 24 Stunden nacheinander in 90 % Alcohol, (resp. gleich in) absoluten Alcohol, Xylol, Xylol-Paraffin āā, Paraffin gebracht. Während ihres Verweilens in den letzteren beiden Substanzen befanden sie sich im Thermostaten bei einer Temperatur von 55—60° C. Von den Paraffinblöcken wurden Serienschnitte in einer Dicke von 7—8 μ angefertigt. Dieselben wurden mittels 96 % Alcohols auf die Objektträger aufgeklebt und, nachdem sie (gegen Staub geschützt) 24 Stunden lang auf dem Thermostaten getrocknet worden waren, mit Ricinusölcollodium fixiert. Später wurde das Paraffin auf dem geheizten Born'schen Ofen geschmolzen, und nach Auflösung des Paraffins in Xylol wurden die Präparate in Canadabalsam eingebettet. Ein Teil der Schnitte wurde gefärbt; dies geschah auf dem Objektträger, und zwar so, dass in der Serie gefärbte und ungefärbte Objektträger abwechselten. Als Färbeflüssigkeit diente eine Paracarminlösung mit 94 % Alcohol (von Dr Grübler, Leipzig). Die zur Färbung bestimmten Schnitte kamen, in der beschriebenen Weise aufgeklebt, nach Auflösung des Parafins nacheinander in Xylol, Chloroform-Alcohol absolutus āā, Alcohol absolutus, 96 % Alcohol und endlich in die Farblösung. Es erwies sich als nötig, die Schnitte 4—5 Tage lang darin zu belassen. Dann wurden sie mit 96 %

Alcohol abgespült, etwa 20 Minuten in schwach salzsaurem 96 % Alcohol entfärbt, blieben dann noch einige Zeit in 96 % Alcohol und wurden endlich in der oben geschilderten Weise der Einbettung in Canadabalsam zugeführt.

Das Schneiden der Organe in Paraffineinbettung war nicht überall gleich gut durchführbar. Die Gewebsteile der ureterenunterbundenen Hennen, sowie die der Hennen mit genuiner Gicht wurden teilweise so hart, dass das Schneiden gröste Mühe machte, und auf lückenlose Schnittserien verzichtet werden musste. Zur Ergänzung der Paraffinschnitte wurden daher bei der Beurteilung dieser Organe noch eine grosse Reihe von Gefrierschnitten herangezogen. Es gelang, die Gewebsstückchen, welche in Alcohol gehärtet worden waren, schon nach einem etwa 20 Minuten langen Aufenthalt in destilliertem Wasser zum Gefrieren zu bringen. Die von allen Organen gleich nach der Sektion angelegten und in Glycerin aufbewahrten frischen Gefrierschnitte, die FREUDWEILER bei derartigen Untersuchungen übrigens als die einzig massgebenden ansieht, zeigten, dass die Bilder durch diesen kurzen Aufenthalt des Blocks im Wasser nicht wesentlich verändert wurden. Im übrigen wurden die Gefrierschnitte in derselben Weise wie die Paraffinpräparate nur in hochprocentigen alcoholischen Lösungen behandelt und gefärbt.

Die Färbungsmethode ergab recht schöne Bilder aller Organe. Die Zellkerne zeigten sich dunkelrot, die Zellleiber hellrosa gefärbt, die Grenzen der einzelnen Gebilde scharf.

III. Pathologisch-anatomische Befunde.

1. GENUINE GICHT.

Henne A.

Grosses, schwarz-weiss geflecktes Tier in gutem Ernährungszustande, mit reichlichem Fettpolster, ohne äussere Zeichen einer Erkrankung. Die Färbung des Kammes ist von der des Kehllappens kaum zu unterscheiden. Gewicht 2400 gr.

Bei der Eröffnung der Bauch- und Brusthöhle fällt die ausserordentlich starke Injektion der Blutadern an den inneren Organen auf. Das parietale wie viscerale *Bauchfell* ist mit mehlstaubartigen Auflagerungen diffus bedeckt, die auch auf dem Mesenterium nicht fehlen. Besonders auf dem letzteren sind die Auflagerungen häufig zusammengeballt und erscheinen in Form kleiner weissgrauer Klümpchen; sie sind besonders reichlich in der Verlaufsrichtung der Gefässe, neben diesen her sich hinziehend, ausgebildet. Die gleichen Verhältnisse finden sich auf der *Pleura*. Hier

sind die Auflagerungen hauptsächlich streifenförmig, den Zwischenrippenräumen entsprechend, angeordnet. Zwischen den feineren oder gröberen Stäubchen erscheinen die serösen Häute glatt und spiegelnd. Die Auflagerungen lassen sich mit dem Skalpell leicht abkratzen; sie geben sehr intensiv die Murexidprobe.

Die *Nieren* sind sehr gross, grau-gelblich, mit weissen Punkten und Streifchen gezeichnet; auf dem Durchschnitt verlaufen grauweisse Streifen radiär (stark gefüllte Kanälchen). Consistenz derb. *Ureteren* stark mit weisslichem Brei gefüllt.

Die *Gallenblase* ist prall gefüllt. Der dünne, bräunlich-grüne Inhalt lässt im Reagenzglase einen geringen grau-bräunlichen Bodensatz niedersinken, der sich mikroskopisch als z. T. aus typischen Uratkugeln, z. T. aus amorphen Massen bestehend erweist.

Nach Eröffnung des Herzbeutels zeigen sich das viscerale und die Innenfläche des parietalen *Pericards* ebenfalls mit den geschilderten Auflagerungen bedeckt, welche auf dem Epicard besonders in den grossen Gefässfurchen reichlich vorhanden sind und hier mehr oder weniger grosse weisse Plaques bilden. Murexidprobe positiv.

Die sonstigen inneren Organe, sowie die Muskeln und Gelenke weisen keinerlei Veränderungen in Farbe, Grösse, Consistenz u. s. w. auf, insbesondere sind nirgends Einlagerungen sichtbar. Der frische wässrige Leber- und Nierenextrakt sowie die Galle ergeben die Murexidprobe.

Die *mikroskopischen* Präparate der conservierten, fast durchweg sehr blutreichen Organe sind förmlich übersät von schwarzen polymorphen Ablagerungen, die teils Körnchen, teils Schollen, in der Grösse ausserordentlich schwanken. Manche sind kaum sichtbar, andere erreichen die Grösse zweier nebeneinander liegender roter Blutkörperchen. Sie liegen hauptsächlich in den grossen Gefässen, aber auch in deren Umgebung und haben zu den roten Blutzellen keinerlei Beziehungen. In die weissen Blutkörperchen scheinen sie hier und da eingelagert zu sein. Am frischen Gefrierschnitt sind diese Ablagerungen nicht vorhanden, also wohl ein Produkt der Conservierung. Die Menge der Concremente richtet sich nach dem Blutfüllungszutande der Organe, zu welchem sie in geradem Verhältnis steht. Die besondere Bevorzugung eines der inneren Organe kann nicht festgestellt werden.

Das Gewebe der *Leber* ist im allgemeinen ziemlich unbeschädigt. In der Umgebung der grossen Gefässe macht sich hier und da eine Anhäufung kleiner Rundzellen geltend, und das Parenchym ist stellenweise etwas schlecht färbbar, jedoch sind keine herdweisen Nekrosen vorhanden.

Krystallinische Ablagerungen fehlen vollkommen. Ziemlich häufig findet man gelb-rostbraune, stark glänzende Körnchen von unbestimmter Gestalt, die sich manchmal zu Häufchen zusammenlagern. Ab und zu liegen kleinere derartige Concremente in Leberzellen.

Als feine Körnchen finden sich diese Massen auch gruppenweise in den Harnkanälchen beider *Nieren*, ohne dass eine Schädigung des Gewebes in das sie eingelagert sind, bemerkbar wäre. Weit mehr als dieser Befund fällt in den Nierenschnitten ins Auge eine kolossale Menge von weissgrauen glänzenden Klumpen, welche das Lumen der Harnkanälchen, teils mehr teils weniger dicht ausfüllen. Dieselben bilden meist eine trübe Masse; an ihren Rändern und dort, wo diese nur spärlich vorhanden ist, erkennt man, dass sie zum grössten Teil aus typischen Uratkugeln besteht. Zwischen denselben finden sich manchmal kleine rhombische Täfelchen und amorphe Massen. Von den Klumpen gehen mitunter strahlenförmig feine Nadeln in die Umgebung hinein. Das Parenchym der Niere ist ziemlich gut erhalten, nur manchmal ist das Epithel getrübt, oder die Epitheldecke durch Fehlen von Zellteilen zerrissen. In solchen Partieen, die aber nicht den Eindruck abgegrenzter Herde erwecken, sind Kerne meist nicht sichtbar. An anderen Stellen finden sich neben den krystallinischen Massen im Harnkanälchenlumen gekörnte Cylinder. Die Umgebung der sehr weiten Gefässe ist manchmal kleinzellig infiltriert, und spärlich sieht man in den Interstitien Ablagerungen wolkiger, krystallinisch glänzender weisser Massen, von denen oft Nadeln in das umgebende Gewebe hineinschiessen, das gelegentlich eine geringe Infiltration, nie aber ausgesprochene Nekrose zeigt. Die Grösse dieser Herde überschreitet das 4—5 fache einer Epithelzelle nicht. In den gefärbten Schnitten sind die Krystallablagerungen in den Harnkanälchen viel seltener, die im Gewebe fehlen fast gänzlich; im Gewebe finden sich, anscheinend diesen Herden in der Grösse entsprechend, schlecht gefärbte Partieen mit manchmal leicht entzündlichem Hofe. Die Uratkugeln haben in diesen Schnitten ihre Struktur verloren.

Im *Herzen* sowie in der *Lunge* finden sich neben den schwärzlichen Massen nur spärlich die auch in Leber und Niere beschriebenen gelbbraunen Concremente, die dort in den Spalten zwischen den Zellen liegend, zu diesen selbst keinerlei Beziehungen zeigen. Entzündliche Erscheinungen und krystallinische Ablagerungen fehlen.

Auf dem *Mesenterium* erblickt man unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrösserung in der geschilderten Lagerung längs der Gefässe grauweisse, hellglänzende Körner von unbestimmter Begrenzung, die sich

manchmal zu Häufchen aggregieren (cf. Fig. 1); bei stärkerer Vergrösserung sieht man von diesen feine Nadeln nach allen Seiten ausschiessen



Fig. 1. — Mesenterium, Henne A, schwache Vergrösserung.

und zwischen ihnen ebenfalls teils alleinliegende, teils strahlenförmig sich vereinigende feine Nadeln und schmale rhombische Täfelchen (cf. Fig. 2).



Fig. 2. — Mesenterium, Henne A, starke Vergrösserung.

Henne B.

Weisse Henne in ziemlich schlechtem Ernährungzustande, mit sehr geringem Fettansatz. Gewicht 1120 gr. Cyanose des Kammes angedeutet; sonst sind äusserlich krankhafte Veränderungen nicht zu bemerken.

Der *peritoneale Ueberzug* sämtlicher Bauchhöhlenorgane ist wie mit Mehl bestäubt, ebenso das wandständige Bauchfell.

Darm mässig gefüllt, contrahiert, Venen stark injiciert.

Leber dunkel braunrot, von grösseren und kleineren Stäubchen, besonders auf der Unterfläche bedeckt. Sie erscheint etwas vergrössert. Ihr Gewebe ist ziemlich morsch; auf dem Durchschnitt sieht man eine ganze Anzahl stecknadelspitzen-grosser weiss-glänzender Punkte.

Die *Gallenblase* ist sehr stark mit einer braungelben, zähflüssigen Masse gefüllt. Darin viele grössere und kleinere, unbestimmt geformte, nicht krystallinische, graugrünliche Konkremente, welche nach Ausschütten des Gallenblaseninhalts in ein Reagenzgläschen auf den Boden desselben sinken und mehr als die Hälfte des ganzen Gallenblaseninhaltes darstellen. Unter dem Mikroskop findet man in diesem Bodensatz viele Uratkugeln und amorphe Massen, keine Nadeln, Täfelchen u. s. w.

Niere sehr blutreich, ziemlich hart bräunlichrot. Die einzelnen Läppchen sind scharf von einander getrennt und zeigen eine weisskörnige



Fig. 3. — Herz von Henne B.

Oberfläche. Auf dem Durchschnitt zahlreiche gelbweisse Streifen, die oft radiär verlaufen, selten feine, kaum sichtbare, glänzende Pünktchen. Beide *Ureteren* prall mit weissem Brei gefüllt.

Die *Milz* ist blaurot, weich, ihr Kapsel ebenfalls mit vielen weissen Stäubchen bedeckt. Auf dem Durchschnitt mässig viele, an der Grenze des Sichtbaren stehende, glänzende Pünktchen.

Auf dem *Brustfellüberzug der Lunge* finden sich mehrfach grosse circumscripte Herde von weissen Auflagerungen, welchen gleichartige Erscheinungen auf der costalen Pleura im Bereich der Zwischenrippenräume entsprechen. Auf dem Lungendurchschnitt quellen aus den Luftröhrenverzweigungen mässige Mengen einer graugrünlichen zähen Flüssigkeit.

Das parietale *Pericard* zeigt auf Aussen- und Innenfläche die erwähnten stäubchenförmigen Auflagerungen, welche auf dem Epicard ganz besonders reichlich vorhanden sind. Dort fliessen sie zu grösseren Körnchen und oft plaqueartigen flächenhaften Ueberzügen zusammen, die wieder besonders in den grossen Gefässfurchen ausgebreitet sind. Spärlich sieht man feine, leicht zerreissliche Stränge von dem visceralen zu dem parietalen Pericard hinüberziehen. Sonst ist der seröse Herzüberzug glatt und spiegelnd (cf. Fig. 3).

Die Herzkammern sind fest contrahiert, leer; die Vorhöfe, besonders der rechte, prall mit braunrotem, geronnenen Blut angefüllt. Herzfleisch etwas blass, sonst ohne Veränderungen.

Sämtliche *Gelenke* sind mit einer schmierigen grauweissen Masse ausgefüllt, zeigen jedoch keine Rötung oder sonstige Veränderung ihres Synovialüberzuges; Knorpel überall intakt.

Die *Murexidprobe* fällt bei sämtlichen Auflagerungen, dem Inhalt der Gelenke und der Gallenblase, sowie dem wässrigen Extrakt von Leber und Niere stark positiv aus.

In der Körpermuskulatur und im Knochenmark sind Veränderungen nicht zu entdecken.

In den *mikroskopischen* Bildern der gehärteten Organe finden sich die gleichen schwärzlichen Massen, wie bei Henne A. Diese zeigen auch dieselben physikalischen Erscheinungen, sowie die gleiche Lagerung und Beziehung zum Blutreichtum der Präparate, so dass von einer genaueren Schilderung der Concremente hier wohl abgesehen werden kann. Die einzelnen Organe zeigen dagegen weitergehende Veränderungen, als die von Henne A.

Die wieder sehr blutreiche *Leber* bietet im allgemeinen das Bild einer mässig starken Veränderung. Das Zellprotoplasma ist öfter getrübt; Kerne sind an vielen Stellen nicht sichtbar. Im periportalen Bindgewebe und bisweilen auch in den Zellinterstitien besteht kleinzellige Infiltration; die Schnitte sind durchsetzt von verschieden grossen krystallinischen Ablage-

rungen, deren grösste den schon makroskopisch als glänzende Pünktchen von Stecknadelkopfgrösse gesehenen entsprechen. Dieselben bestehen aus strahlenförmig angeordneten Nadeln. Dazwischen sieht man öfter kleinere Ablagerungen, die aus nur wenigen kurzen, feinen, ebenfalls radiär gestellten Nadeln bestehen. In der Umgebung der Herde ist das Protoplasma glasig getrübt, eine kleinzellige Infiltration ist dagegen nicht zu bemerken. Im gefärbten Präparat sind die Ablagerungen weit seltener, die feinen fehlen vollkommen; dafür sieht man dort trübe, diffus gefärbte Stellen, etwa von der Grösse der krystallinischen Herde; diese Stellen erscheinen dunkler als das andere Gewebe. Auch im ungefärbten conservierten Organstück finden sich solche Stellen, aber viel seltener, und hier sehen sie heller aus, als ihre Umgebung. Ein Entzündungswall ist nie vorhanden. Niemals können in den Blutgefässen Nadeln entdeckt werden. Die Capillaren sind sehr weit. In ihnen sowie in manchen Leberzellen finden sich mässig oft die gelbbraunen Körnchen, welche auch bei Leber A beschrieben sind.

Diesem Befunde entspricht das Bild der *Nieren*. Die Harnkanälchenepithelien sind ziemlich weitgehend trüb und gequollen. Öfter ist die Epitheldecke zerstört. Bei den gefärbten Präparaten ist die Kernfärbung oft undeutlich. Stellenweise ist eine Einlagerung feiner gelber Körnchen in's Epithel, wie bei Niere A., zu bemerken. Im Lumen der Kanälchen fallen wieder reichliche weisse, krystallinisch glänzende Massen auf, welche zum grössten Teil aus Uratkugeln bestehen und von denen hier und da Nadeln ausschiessen. Daneben finden sich ziemlich reichlich granulierte Cylinder. Das interstitielle Gewebe scheint stellenweise gewuchert und ist ziemlich diffus infiltriert; an den Kapseln der Glomeruli kann man öfter eine deutliche Verdickung bemerken. Ab und zu, häufiger als bei Niere A, findet man in trübem undifferenzierten Gewebe in den Interstitien Herde von radiär ausstrahlenden feinen Nadeln, die im gefärbten Präparat rot und viel seltener sind. Daneben sieht man im ungefärbten Schnitt einzelne oder winklig aneinander stossende, manchmal auch zu Büscheln vereinigte feine Nadeln.

In der *Milz* befinden sich in getrübtem Gewebe ohne entzündliche Umgebung krystallinische Ablagerungen, welche denen in der Leber völlig entsprechen, ihnen an Zahl aber in geringem Masse nachstehen. Auch hier sind die Krystallherde im gefärbten Präparat seltener, und dafür sind im letzteren Herde von diffuser Färbung ohne Gewebsdifferenzierung vorhanden, aus welchen die Krystalle offenbar ausgewaschen sind. Ziemlich häufig werden gelbbraune glänzende Körnchen gesehen.

Letztere sind auch in den Geweben von *Herz* und *Lunge* zu finden, die beide keine krystallinischen Einlagerungen zeigen und auch sonst wesentliche Veränderungen nicht darbieten.

Der Befund am *Mesenterium* entspricht völlig dem von Henne A.

Henne C.

Weisse Henne in leidlich gutem Ernährungszustande ohne sichtbare Krankheitszeichen.

Sie zeigt bei der Obduktion genau dasselbe Bild, wie Henne A; insbesondere sind auch an den Gelenken keine Veränderungen sichtbar. Da die inneren Organe dieses Tieres bei der Obduktion bereits Zeichen beginnender Fäulniss zeigen und eine genauere mikrokopische Untersuchung ebenso wie makroskopisch denselben Befund wie bei Henne A erwarten lässt, so wird auf dieselbe verzichtet.

2. Uratstauung.

Die 3 mit Ureterenunterbindung operierten normalen Hühner zeigten bei der Obduktion ungefähr das gleiche Verhalten. Es möge daher hier nur das Protokoll einer Henne Platz finden, welche das am meisten charakteristische Bild bot, und deren Organe daher auch allein eingehender untersucht wurden, während ich mich bei den anderen beiden mit frischen Gefrierschnitten begnügte.

Braune Haushenne; Gewicht : 1430 gr. Bei 3-tägiger Beobachtung unter Weizenkörnerfütterung zeigt sie keinerlei krankhafte Erscheinungen. Am 17. X. 00 abds 5 $^1/_2$ Uhr werden ihr beide Ureteren von der Bauchhöhle aus unterbunden. Während sie am selben Tage noch Weisenkörner und Brot frisst, auch keine sichtbaren Veränderungen zeigt, steht sie am 18. X. früh 8 Uhr stumpfsinnig mit geschlossenen Augen in ihrem Käfig, reagiert auf Anrufen durch Öffnen der Augen, und weicht Hindernissen bei gezwungenen Bewegungen aus. Um 10 Uhr liegt sie am Boden; die Augen sind beständig geschlossen; sie kann aufgestellt sich nicht auf den Beinen erhalten, öffnet nur die Augen und macht mit Flügeln und Beinen Abwehrbewegungen. Der ganze Körper fühlt sich kalt an. Kamm dunkel gefärbt. 11 $^3/_4$ Uhr hat sich der Zustand nicht wesentlich verändert, die Somnolenz ist nur noch tiefer geworden. Das Tier wird 18 Stunden post operationem getötet und sofort obduziert.

Es finden sich keinerlei Ablagerungen auf den serösen Häuten, keine Einlagerungen in den Organen oder sonst im Körper. Starke Blutfüllung sämtlicher Organe. Pralle Consistenz der graugelbrötlichen Nieren. Die

Ureteren verlaufen als dicke, stark mit weissem Brei gefüllte Stränge durch die Bauchhöhle. Gallenblase kolossal gefüllt. Auf ihrer Schleimhaut wenige Krümchen, mikroskopisch als Uratkugeln erkennbar. Murexidprobe an der Galle positiv.

Die *mikroskopische* Untersuchung ergiebt im frischen Gefrierschnitt mässige Verfettung der Nierenepithelien, stärkere in der Leber. In den Harnkanälchen die z. T. erweitert sind, finden sich kolossale Massen von Uratkugeln. Die Paraffin- und Gefrierschnitte der gehärteten *Niere* lassen ab und zu Nadeln erkennen, welche aus den vollgestopften Harnkanälchen in die umgebenden Gewebe hineinschiessen, die aber im frischen Schnitt nie gesehen werden. Die Massen brechen das Licht doppelt und nehmen bei der Färbung eine rosa Farbe an, wobei die Uratkugeln die radiäre Struktur verlieren. Die Glomeruli haben eine diffuse Rotfärbung angenommen, ihre Kerne sind nicht scharf sichtbar, die Gefässschlingen im Centrum sehr undeutlich. Eine nennenswerte Veränderung der Harnkanälchenepithelien ist nicht vorhanden. Nur hier und da Trübung und beginnende Desquamation.

Die *Leberschnitte* zeigen sehr spärlich kleine gelbbräunliche Körner, welche im polarisierten Licht mässig glänzend erscheinen. Dieselben Körnchen finden sich auch kleiner und noch spärlicher in den Nierenepithelien wieder.

3. Die fleischgefütterten Hühner.

Die pathologisch-anatomischen Befunde der fleischgefütterten Hühner sind bereits von Kionka (12) veröffentlicht worden. Ich beschränke mich daher hier auf die Mitteilung des mikroskopischen Befundes der Organe. Derselbe bietet besonderes Interesse, weil er Gelegenheit giebt, auf die von Schreiber und Zaudy (11) berührte Frage über die Entstehungsweise der Harnsäure einzugehen.

Schon bei Betrachtung der Organe mit schwacher Vergrösserung fällt das ausserordentlich kümmerliche und atrophische Aussehen der Zellen auf, das mit der dauernden Gewichtsabnahme während der Krankheitsverlaufes und dem stark reduzierten Ernährungszustande der Versuchstiere zur Zeit ihres Todes vollkommen im Einklang steht. Die betreffenden Organzellen der zum Vergleich untersuchten normalen Hühner erwiesen sich dagegen als vollsaftiger und grösser, sie drängen sich viel mehr an einander.

Fast durchgängig sind die Organe ausserordentlich blutreich und wie übersät mit schwarzen, amorphen Massen, die teils feine Körner darstellen, teils auch kleinere und grössere Konglomerate und Schollen bilden.

Sie liegen zum allergrössten Teil in den grossen Blutwegen, sind aber auch in deren Wandungen und in der Nähe derselben sichtbar, wo sie in einem Netzwerk angeordnet liegen, anscheinend den Blutkapillaren entsprechend. Die Körperchen leuchten bei einer bestimmten Einstellung des Tubus gelbbraun auf, was besonders bei mittlerer und starker Vergrösserung in die Erscheinung tritt. Sie polarisieren das Licht nicht. Zu den roten Blutkörperchen stehen sie in keinerlei Beziehung, dagegen fällt schon beim ungefärbten Präparat manchmal die kreisförmige Anordnung solcher Körnchen auf, die ihre Einlagerung in weisse Blutzellen vermuten lässt. In der That sieht man im gefärbten Präparat auch öfter Leukocyten derartig vollgestopft mit diesen Massen, dass die Unsichtbarkeit des Zellleibes im ungefärbten Schnitt erklärlich erscheint. Im gefärbten Präparat derselben Serie sind die Massen viel seltener als im ungefärbten, die blutreicheren Präparate zeigen im allgemeinen diese Körperchen häufiger, die weniger blutreichen in geringerem Grade, vermisst werden sie nie.

Die *Lebern* zeigen sich — mit Ausnahme von Leber 5 und 10(1) — im allgemeinen gut erhalten. Sehr in's Auge fallend ist die starke Erweiterung der Leberkapillaren, die oft breiter erscheinen, als die Balken der allerdings oft sehr stark atrophischen Leberzellen. Die Kapillaren verlaufen bald zwischen den Zellen, bald über dieselben hinweg. Darin erblickt man eine feinkörnige, hellgelbliche Masse (bes. bei 10), sehr häufig auch gelbrostbraune Körner. Dieselben sind teils fein, teils erreichen sie eine Grösse von 20 μ, öfter liegen sie zu Conglomeraten zusammen (wie dies besonders bei 3 ausgeprägt ist) und entsprechen dann ihrem Aussehen nach völlig denen, welche Ebstein (7) (Tafel E, Fig. 21) abbildet. Die feinkörnige Masse in den Kapillaren scheint aus demselben Stoff zu bestehen, wie die gelbbraunen Körner; sie ist oft derartig dicht gelagert, dass man einen Kern der darunter liegenden Leberzellen gar nicht zu erkennen vermag. Häufig finden sich die Körnchen auch in grösserer oder kleiner Menge in den Zellen. Die Protoplasmafärbung ist an solchen Stellen sehr undeutlich, jedoch sind die Zellkerne gewöhnlich erhalten und scharf kontouriert, so dass man den Eindruck hat, als ob die Concremente in gesunde Zellen eingelagert wären.

Oft findet man in ausserordentlich schmalen Zellen neben einem kleinen atrophischen Kern nur Spuren von detritusartigen Protoplasmaresten. An anderen Stellen hat das Gewebe eine diffuse Färbung angenommen, die Umrisse eines Kerns sind überhaupt nicht sichtbar.

(1) Vergl. die Zahlen der Gewichtskurve bei Kionka (12) l. c., p. 191.

Die Ablagerung der beschriebenen gelbbraunen Körner scheint in der Umgebung der Pfortaderverzweigungen häufiger zu sein, als an anderen Stellen; in Leber 3 häufen sie sich dort derartig, dass die einzelnen Gefässgebiete durch sie geradezu abgegrenzt erscheinen, und die Leber eine Art Läppchenbildung erkennen lässt. Bei dieser Leber ist die Protoplasmadegeneration besonders am Leberrande (peritoneale Oberfläche) ausgesprochen.

Auch im Lumen grösserer Gefässe finden sich sehr selten die feinen gelben Körnchen, welche mit den protoplasmatischen Einlagerungen identisch zu sein scheinen; es ist indessen wegen der ausserordentlichen Seltentheit dieses Ablagerungsortes und der Häufigkeit der Körnchen im Gewebe wohl nicht ausgeschlossen, dass die Körnchen bei der Behandlung der Schnitte aus dem Paremchym in das Gefässlumen hineingeschwemmt worden sind.

Eine dichtere Ablagerung der Concremente an Stellen mit ausgesprochener Parenchymdegeneration ist nicht festzustellen. Während die geschilderten Veränderungen bei allen Lebern in mehr oder weniger ausgeprägter Weise, stets aber deutlich vorhanden sind, beobachtet man bei etlichen Schnitten gelegentlich anscheinend dieselben braungelben Körner, wie sie im Parenchym liegen, eingelagert in die Epithelien grösserer Gallenwege. In dem Lumen von Gallengängen findet man endlich sehr spärlich grünliche Concremente (vermutlich Gallenfarbstoff), welche mit ebensolchen rotgefärbten in gefärbten Schnitten identisch zu sein scheinen, aber keine krystallinische Struktur zeigen.

Ein interessanter Befund lässt sich noch bei Leber 10 erheben. Man sieht ausser den geschilderten, hier sehr stark ausgebildeten Abnormitäten in mehreren grossen Gefässen (Arterien und Venen) teils spärlich zwischen den Blutkörperchen liegende, teils wandständige Massen von kleinen, die Grösse normaler Leberzellkerne nicht überschreitenden polygonalen blassrosa gefärbten Zellen mit rundem, grossen bläschenförmigen Kern. Diese Zellmassen, manchmal anscheinend mit der Gefässwand zusammenhängend und von ihr ausgehend, verengern dass Gefässlumen stellenweise stark und verdrängen die Blutkörperchen vollständig. In anderen Gefässen finden sich von diesen Zellmassen gebildete Thromben, und auch die Kapillaren sind auf weite Strecken hin von ihnen ausgefüllt, so dass ganze Bezirke völlig anämisch sind. Neben diesen Zellmassen liegen die feinen hellgelben und die grösseren braungelben Körnchen in grossen Mengen in den Kapillaren; auch die Ablagerung der Konkremente in dem umgebenden nicht mehr als sonst irgendwo veränderten Protoplasma ist

sehr reichlich. — In den Schnitten derselben Leber haben bestimmte, makroskopisch sichtbare, stecknadelspitzen = bis stecknadelkopfgrosse Herde die Farbe etwas intensiver angenommen. Die Grenzen dieser Herde sind verwaschen, sie selbst bestehen aus einer undifferenzierten körnigen Masse, die von glasigen Strängen, anscheinend den früheren Kapillaren, durchzogen sind. Irgendwelche Ablagerungen sind in diesen nekrotischen Herden nicht zu finden; die sonst in der Leber so zahlreichen gelbbraunen Körner sind weder in der Umgebung der Herde, noch in diesen selbst häufiger als sonst, ja sie vermeiden das Centrum der Nekrosen sogar ganz. Ebensowenig ist eine Infiltration in der Umgebung der Herde zu bemerken.

Die protoplasmatische Degeneration, die allerdings immer in bestimmten Bezirken vorliegt, ist in keiner anderen der Lebern so scharf abgegrenzt, wie in Leber 10, die kleinen Zellen in den Gefässen wurden spärlich auch bei 2 und 3 gefunden.

Auf einen Nebenbefund in Leber 5 soll weiter unten noch eingegangen werden.

Auch die *Nieren* bieten, abgesehen von der Atrophie der Epithelbekleidung, der auch eine abnorme Kleinheit der Glomeruli entspricht, mancherlei Veränderungen dar, die indessen zu geringfügig sind, als dass man — ausser etwa bei Niere 4 und 10 — von einer Verwüstung der Organe reden könnte. Es findet sich in manchen gewundenen Kanälchen eine Quellung, Vacuolenbildung und diffuse Färbung des Epithels, dessen Decke manchmal nicht völlig intakt ist. Kerne in den Zellen sind öfter nicht sichtbar. In dem Lumen, besonders der grösseren Röhrchen findet man mehr oder weniger häufig gekörnte Cylinder, selten krystallähnliche, eckige Gebilde von graugrüner Farbe, welche das Licht polarisieren. In manchen Epithelzellen kann man 2 Kerne finden. Ausserordentlich auffällig ist die Einlagerung von feinen gelbbräunlichen Körnchen in manche Epithelzellgruppen. Diese Einlagerungen, welche ein ganz ähnliches Aussehen zeigen, wie die Conkremente im Leberparenchym nehmen entweder den basalen Teil der Zelle ein oder füllen sie auch gänzlich aus, so dass man einen Zellkern nicht zu erkennen vermag. Eine Beziehung dieser Einlagerungen zu den zelligen Degenerationserscheinungen lässt sich nicht konstatieren, die Zellen welche die Concremente enthalten, erscheinen vielmehr völlig normal; in den Glomerulis werden die Körnchen nie gefunden.

Stärker ausgeprägt sind die degenerativen Vorgänge in Niere 4 und 10. In den letzteren finden sich auch die schon bei Leber 10 beschriebenen Zellmassen in den stark erweiterten Blutkapillaren, wo sie vollständige

anämische Infarkte hervorgerufen haben. Dieselben sind schon makroskopisch als keilförmig, mit der Basis nach der Nierenoberfläche gewandt, sichtbar und zeigen in ihrer Umgebung ziemlich starke Hämorrhagien.

Hier möchte ich einen Nebenbefund an den Organen der Henne 5 erwähnen, der insofern interessant ist, als er vielleicht einige Aufklärung über den frühzeitigen Tod dieses Tieres giebt. Im Hilus der einen Niere, die in keiner Weise andere Erscheinungen darbietet, als die Organe der übrigen Tiere, sitzt, vom Nierengewebe durch einen etwa 1 mm. breiten Streifen Bindegewebe scharf abgetrennt, ein fast hühnereigrosser Tumor von knorpelharter Consistenz. Auf dem Durchschnitt zeigt er sich weiss, von einer dunkleren straffen Bindegewebskapsel eingeschlossen. Unter dem Mikroskop erweist sich die Neubildung als ausserordentlich zellreich. Sie besteht fast ausschliesslich aus kleinen rundlichen Zellen mit einem, sehr oft aber zwei mittelgrossen bläschenförmigen Kernen. Nur in der Periphie des Tumors sind zwischen die Zellen Bindegewebslamellen eingestreut. Während hier Blutgefässe vorhanden sind, finden sich im Centrum der Geschwulst wo nur höchst spärlich Bindegewebsfasern zwischen den dichtgedrängten Zellen sichtbar werden, keinerlei Gefässe. Beim Versuch der Paraffineinbettung wird der Tumor steinhart. Die *Leber* dieser Henne (s. o.) ist kolossal vergrössert, auf der Oberfläche sieht man kleinere und grössere weisse Pünktchen und Knötchen, die die Grösse eines Hanfkornes erreichen. Auf dem Durchschnitt erweist sich die ganze Leber von ebensolchen Herden durchsetzt, ohne dass ein Teil des Organes bevorzugt wäre. Dieselben sind rundlich, scharf gegen ihre Umgebung abgesetzt. Der mikroskopische Schnitt zeigt dass es sich um Metastasen des Nierenkapseltumors handelt. In den Herden, die durch einen entzündlichen Wall mässigen Grades gegen das Lebergewebe scharf abgegrenzt sind, liegen zwischen den stehengebliebenen Maschen der Leberzellbalken die beschriebenen Tumorzellen. Es handelte sich also um ein malignes sarkomartiges Gewächs, das vermutlich von der Nierenkapsel seinen Ausgang genommen hatte.

III. Die Ablagerungen und Gewebseinschlüsse.

Während nun die geweblichen Veränderungen einer weiteren Erklärung zunächst nicht bedürfen, nehmen die verschiedenartigen *Ablagerungen* das Interesse lebhaft in Anspruch, und es fragt sich, welcher chemischen Natur dieselben seien. In Betracht kommen dabei :

1) die krystallinischen Ablagerungen in den Geweben und auf den

serösen Häuten der an genuiner oder künstlicher Gicht sowie infolge von Ureterenunterbindung zu Grunde gegangenen Tiere;

2) die schwärzlichen Massen die sich hauptsächlich im Blute der verschiedenen Tiere finden;

3) die gelbrostbraunen feineren und gröberen Massen in Leber und Niere aller untersuchten Hühner, besonders aber der fleischgefütterten. Schon aus der Schilderung des mikroskopischen Bildes geht hervor, dass diese so bezeichneten Körner bei allen Tieren identisch sind; wie weiter unten dargelegt werden wird, bestätigt ihr gleiches physikalisches und chemisches Verhalten diese Anschauung.

4) Weiterhin sollen noch eine Art bisher nicht erwähnter Ablagerungen im Unterhautzellgewebe besprochen werden und

5) die graugrünen Ablagerungen in den Gallengängen ihre Deutung finden.

1. Die krystallinischen Ablagerungen in den verschiedenen Organen.

An Ablagerungen krystallinischen Charakters liegen zunächst vor aus den Nieren, Ureteren und der Galle der gichtkranken Hühner sowie der Uratstauungshenne schwach gelbgrünlich gefärbte Sphärokrystalle mit radiärer Streifung; die Form dieser Krystalle lässt schliessen, dass es sich um typische *Uratkugeln* handelt, wie es die Vergleichung mit den Uratkugeln im Harn normaler Hühner zum Ueberfluss noch bestätigte. Diese, von Baumgarten (15) zuerst beschrieben und oft abgebildet (z. B. Ziegler (16), p. 240 und Kossa, l. c., p. 100), sind von verschiedenster Grösse. Sie erreichen in Ausnahmefällen die eines Glomerulus, während sie in anderen Exemplaren nur mit starker Vergrösserung als Sphärokrystalle erkennbar sind. Sie bilden einen Teil des Gallenblaseninhalts und liegen im Lumen der Harnkanälchen, teils vereinzelt, teils zu wurstartigen, wolkigen, durchscheinenden starkglänzenden Massen zusammengepresst. Im Gewebe und auf den serösen Häuten werden sie nie gesehen.

Ebenfalls als *harnsaure Salze* anzusprechen sind ohne jeden Zweifel die beschriebenen Nadeln und amorphen weisslichen Massen in dem Gewebe der Niere, Leber, Milz, sowie auf den serösen Häuten. Dafür spricht nicht nur der Umstand, dass die von den serösen Häuten abgeschabten Concremente sowie der wässrige Auszug der Organe die Murexidprobe ergaben, sondern das ganze Aussehen und die Anordnung der Krystalle legen diese Vermutung schon sehr nahe. Sie entsprechen völlig den Bildern, wie sie z. B. von Kossel (16) (p. 282, Fig. 164), Ebstein (l. c., Tafel E, Fig. 24), Ziegler (l. c., p. 236), Freudweiler

(l. c., Fig. 6) gegeben werden. Der Uebergang der Uratkugeln in die sonst in dem Gewebe sichtbaren Nadeln, wie es als ein Auschiessen der letzteren von Ansammlungen der Kugeln in's Gewebe hinein geschildert ist, bestätigt endlich die gleiche chemische Abstammung der beiden Krystallformen. Die von BAUMGARTEN als harnsaures Natron angesprochenen « Uratkugeln » bestehen nach HUPPERT (18) (p. 316 u. 319) aus Natriumbiurat und -tetraurat. Der erstgenannte Forscher beobachtete schon, wie in reinem Wasser aus den Uratkugeln Nadeln ausschossen, welche genau das Aussehen des von FUNKE in seinem Atlas zur physiologischen Chemie, IV, 4, abgebildeten harnsauren Natrons hatten. In den Schnitten der Uratstauungshenne, welche eine Combination von Kugel- und Nadelherden zeigen, hat vermutlich erst post mortem, bei der Conservierung der Organe und Behandlung der Schnitte dieses Ausschiessen der Nadeln stattgefunden; denn im frischen Schnitt wurde eine derartige Combination nie gefunden, und meine Untersuchungen zeigten mir, dass selbst unser gewöhnlicher « absoluter Alcohol » schon nach kurzem Gebrauch für die ausserordentlich zarten Krystalle ein deutliches Lösungsvermögen besitzt. Wie schon all dieses schliessen lässt, so bestätigen auch die vielfachen Abbildungen in der Litteratur, mit denen die Nadeldepots übereinstimmen (ich nenne hier nur noch HUPPERT, l. c., p. 316), dass diese Nadeln ebenfalls aus harnsaurem Natrium bestehen.

Was das Verhalten der Gewebe zu den Ablagerungen betrifft, so lagen die *Uratkugeln* stets nur in Harnkanälchen und in der Gallenblase. Eine besondere Schädigung der Kanälchenepithelien an dem Lagerungsorte war nie festzustellen, was ja auch der Gewohnheit der Vogelniere, Uratkugeln auszuscheiden, entspricht. Die Ausscheidung solcher Kugeln in die *Galle* ist bisher in den Lehr- und Handbüchern der physiologischen Chemie nicht angeführt, jedoch wurden dieselben bereits 1881 von COLASANTI (19) spärlich und später von ZAUDY (11) gefunden. Der « weisse Niederschlag in der Galle », welchen KOSSA (8) bei seinen Tieren findet, besteht wohl ebenfalls aus derartigen Krystallmassen. Bei den infolge von genuiner Gicht eingegangenen Hennen fiel die ausserordentliche Menge dieser Concremente in der Galle, die z. B. bei Henne B, wie schon oben erwähnt über die Hälfte des gesamten Gallenblaseninhaltes darstellte, sehr auf, da sie mir darauf hinzuweisen schien, dass die Gallenwege im Vogelorganismus eine nicht unbedeutende Rolle bei der Harnsäureausscheidung spielen.

Die krystallinischen Nadelherde in den verschiedenen Organen lagen stets mitten im Gewebe, ohne zu besonderen Partieen desselben eine

gewisse Vorliebe zu zeigen. Die mitunter beobachteten, nur aus 2 oder 3 Nadeln bestehenden Herdchen lagen in den Zellzwischenräumen (Lymphspalten), waren aber von einer Gewebzerstörung nicht begleitet. Die grösseren Herde wiesen hingegen stets eine solche auf. Die Zellen in ihrem Bereich zeigten sich trüb, undeutlich begrenzt, bildeten sogar in anderen Fällen eine undifferenzierte Masse, welche eine intensivere Färbung annahm. Eine sichere kleinzellige Infiltration in der Umgebung der Herde, welche ja allerdings die Grösse einer Stecknadelspitze nie überschritten, konnte ich nur selten (besonders bei Henne A) beobachten. Gerade die entzündliche Reaktion ist bei Ebstein eins der Hauptkriterien eines Gichtherdes; die experimentellen Untersuchungen Freudweiler's (14) (p. 41) haben jedoch gezeigt, dass eine solche nicht unbedingt nötig ist, sondern dass es für alle derartigen Ablagerungen einen Zeitpunkt giebt, wo eine Nekrose des Gewebes schon vorhanden ist, eine entzündliche Reaktion des umgebenden Gewebes aber noch nicht eingesetzt hat. Das verhältnissmässig intakte Aussehen der Zellen in der Nähe der kleineren und kleinsten Herde und die Spärlichkeit wirklicher Nekrosen im ausgewaschenen Präparat legen übrigens den Gedanken einer postmortalen Entstehung dieser Ablagerungen im Bereich der Lymphspalten ausserordentlich nahe. Für die Beteiligung des Lymphsystems beim Zustandekommen der Ablagerungen spricht übrigens vielleicht auch deren Anordnung auf dem Mesenterium, wo sie sich, wie schon oben beschrieben an den Gefässen (Lymphbahnen) entlang erstrecken.

Die völlige Abwesenheit deutlicher Uratkugeln und nadelförmiger Niederschläge in den Lebern und Nieren der fleischgefütterten Hühner ist vermutlich so zu erklären, dass solche wohl vorhanden waren, wie der Befund von Kionka (12) auch nachweist, aber durch die Aufbewahrung der Organe in Formalin (4 %) verloren gegangen sind. Die färbbaren Schollen, die ab und zu in den Harnkanälchen gefunden wurden, sind zweiffellos als Reste von Uratkugeln zu betrachten; die geschilderte Veränderung dieser Krystalle in meinen gefärbten Präparaten der anderen Tiere macht dies sehr wahrscheinlich. Das wässrige Extrakt der Nieren und Lebern ergab bei keiner der fleischgefütterten Hennen die Murexidprobe. Auch in der 4 % Formalinlösung in welcher die Organe aufbewahrt waren, konnte ich Harnsäure nicht nachweisen, was aber nicht gegen ein früheres Vorhandensein derselben in den Organen spricht, da die neueren Untersuchungen von Paul und His (13) die Zersetzlichkeit der Harnsäure in Wasser, dem eine 4 % Formalinlösnng so nahe steht, erst wieder bestätigt haben.

2. Die schwärzlichen Massen, die besonders in den Blutbahnen liegen.

Der Umstand, dass die bereits beschriebenen schwärzlichen Massen, die bei bestimmter Tubuseinstellung im mikroskopischen Bilde gelbbraun aufleuchten, hauptsächlich in den grösseren Blutwegen und deren nächster Umgebung liegen, sowie dass sie annähernd gleichmässig in den verschiedenen Organen zu finden sind und mit der Blutfüllung der Gewebe im geraden Verhältnis stehen, weist auf den haematogenen Ursprung der Ablagerungen hin. Es fragte sich nun, ab es sich um ein specifisches gichtisches Produkt handele und welcher chemischen Natur es sei.

Zu diesem Zweck wurden die Massen zunächst auf ihre Löslichkeit hin untersucht. Dies geschah teils an eigens hierzu angelegten Gefrierschnitten, teils an Paraffinpräparaten, welche in der oben beschriebenen Weise auf den Objektträger aufgeklebt, entparaffiniert und durch absteigend concentrierten Alcohol in Wasser übertragen worden waren. Nachdem nun unter dem Mikroskop noch einmal die Anwesenheit der Ablagerungen festgestellt worden war, wurden die Objektträger auf 24 Stunden in Bechergläschen mit verschiedenen Reagentien gestellt und darauf wieder mikroskopisch untersucht. Dabei ergab sich gegenüber von Controllpräparaten, dass die Massen unlöslich waren in destilliertem Wasser (auch bei halbstündigem Kochen) mit und ohne Zusatz von Salzsäure, ferner in Alcohol, Aether, Chloroform, Essigsäure, 4 % Formalinlösung, Xylol, concentrierter Salz-, Schwefel- und Salpetersäure; löslich dagegen zeigten sie sich in geringem Masse und nach einiger Zeit in 1 % salzsaurem Alcohol und 1,8 % Natronlauge, ausserordentlich schnell in Ammoniak. Nach Feststellung dieser Löslichkeitsverhältnisse wurde die Lösung der Massen unter dem Mikroskop durch seitliches Zufliessenlassen von Ammoniak unter das Deckglas und gleichzeitiges Ansaugen der Flüssigkeit mittels eines Fliesspapierstreifens auf der entgegengezetzten Seite beobachtet. Die Lösung erfolgte ausserordentlich rasch. Es bildete sich um die zusehends kleiner werdenden Konkremente zunächst ein hellgelber Hof, der sich immer intensiver braun färbte, und nach 2—3 Minuten waren selbst die grössten Ablagerungen verschwunden. Dabei konnte man öfter bemerken, dass an Stelle der gelösten Massen Gebilde zurückblieben, welche (auch durch nachträgliches Zufliessenlassen von Farblösungen) als Leukocyten erkennbar waren.

Die mikrochemische Gmelin'sche Probe sowie die Reaktionen auf Eisen, die in einer später noch zu beschreibenden Weise ausgeführt wurden, blieben negativ. Die Ablagerungen polarisierten das Licht nicht.

In der Hoffnung, durch Auskrystallisieren die chemische Beschaffen-

heit der Massen feststellen zu können, wurde ein grosses Stück Niere fein zerquetscht, 24 Stunden mit Wasser und ebensolange mit Alcohol und Aether extrahiert, dann 24 Stunden mit Ammoniak digeriert und filtriert. Mehrere angestellte Versuche mit Abdunsten des leicht bräunlich gefärbten Filtrats über Schwefelsäure oder über dem geschlossenen Wasserbade ergaben indessen keinerlei bemerkenswerte Resultate. Teichman'sche Häminkrystalle konnten weder im Präparat noch mittels des eingedampften Filtrats dargestellt werden. Makroskopisch blieb die Eisenreaktion am ammoniakalischen Extrakt negativ.

Da bei der Untersuchung der frischen Präparate gleich nach der Obduktion die ausserordentlich augenfälligen Massen in den verschiedenen Organen ebensowenig bemerkt worden waren, wie in den Schnitten derjenigen Organteile, welche in Alcohol conserviert worden waren, so war von vorn herein anzunehmen, dass es sich um ein durch die Aufbewahrung in Formalin erzeugtes Produkt handelte. In der einschlägigen Litteratur findet sich in der That mehrfach die Beobachtung einer Fällung des Blutfarbstoffes durch Formalin. Benedicenti (20) kommt durch seine Versuche am Blut toter Tiere zu dem Ergebnis, dass bei Einwirkung des Formalins aus dem Oxyhaemoglobin durch Spaltung Hämatin ausfällt. Die gleiche Beobachtung führt Puppe (21) an, der auf Grund seiner Untersuchungen sowohl am Blut im Reagenzglase, als auch an anatomischen Präparaten das Formalin für einen kräftigen Hämatinbildner erklärt, und Heile (22) bestätigt diese Ansicht in neuester Zeit. Er weist durch seine Versuche im Reagenzglase nach, dass Formol aus frischem Blut Hämatin, aus fauligem vielfach Haemochromogen ausfällt und kann diese Umwandlungen ebenso wie Puppe und Benedicenti spektroskopisch erkennen; auch in seinen Präparaten beobachtet er mittels des Mikrospektroskops, die gleichen Einwirkungen des Formalins auf das Blut.

In dem auf die oben genannte Weise erhaltenen ammoniakalischen Nierenextrakt konnte ich spektroskopisch nichts Charakteristisches finden, ein Mikrospektroskop stand mir nicht zur Verfügung. Nichts destoweniger glaube ich doch aus dem Umstande, dass die Massen einerseits im frischen Präparat gar nicht und andererseits nur in den mittels Formalin conservierten Organteilen vorhanden sind, sowie aus den Lagerungs- und Lösungsverhältnissen der Conkremente den Schluss ziehen zu dürfen, dass es sich um ein Fällungsprodukt des Formalins aus dem Blutfarbstoff, vermutlich um Hämatin handelt.

Kobert (23), der die Frage der Fällung des Blutfarbstoffes bei der

Conservierung, allerdings nur oberflächlich streift, giebt an, dass sehr häufig auf Formol zurückzuführende schwärzliche Ablagerungen besonders bei den Organen solcher Individuen gefunden würden, die vergiftet worden oder an einer das Blut alterierenden Krankheit gestorben seien; ausserdem sollen sie entstehen, wenn Organe zu spät, nachdem das Blut bereits der Fäulniszersetzung mehr oder weniger anheimgefallen ist, in die Conservierungsflüssigkeit eingelegt werden.

Dass die genuine Vogelgicht sowie die Erkrankung, welcher die fleischgefütterten Hühner erlegen sind, das Blut stark schädigen, wird unten noch des weiteren gezeigt werden. Da ferner die Organe der gichtkranken Hennen erst 2—3 Tage nach dem Tode (s. o.) eingelegt worden sind, so würden also gerade in diesem Falle allerdings alle für die Ausfällung des Blutfarbstoffes günstigen Umstände vorhanden sein.

Jedenfalls ist das Fällungsprodukt ein chemischer Körper, welcher Eisen entweder intramolekular gebunden (in nicht ionaler Form), oder gar nicht enthält. Als ein specifisch gichtisches Produkt kann man also die Ablagerungen nicht bezeichnen.

3. Ablagerungen im Leber- und Nierengewebe (gelbrostbraune Körner).

Von grösserem Interesse sind die in den Lebern besonders der fleischgefütterten Hühner ausserordentlich häufig vorkommenden rostbraunen Körner, die von vornherein identisch schienen mit den feineren körnigen Massen in den Leberkapillaren und -zellen sowie in manchen Gruppen von Harnkanälchenepithelien. Der Befund ist um so interessanter, als er anscheinend nicht zum ersten Mal gemacht wird, sondern bereits Ebstein (7) und Zaudy (11) zu mancherlei Erwägungen und Untersuchungen Anlass gegeben hat. Der erstere Forscher beobachtete (l. c. p. 66) bei einem Hahn, der infolge von doppelseitiger Ureterenunterbindung nach 21 Stunden in comatösem Zustande verendet war, neben den — allerdings geringfügiger als sonst ausgebildeten — Erscheinungen der Uratstauung eine diffuse parenchymatöse Degeneration der Leber, einhergehend mit starker Erweiterung der Gefässe und Verkleinerung des Leberparenchyms. Ausserdem fand er grössere « braune Körner dunkler Tingierung, die teils einzeln lagen, teils sich zu grösseren Ablagerungen gruppierten. » Die von ihm in Fig. 21 auf Tafel E abgebildeten Körner entsprechen den von mir gefundenen mit dem einzigen Unterschied, dass die Konkrementhäufchen in meinen Präparaten nicht ganz die Grösse der Ebstein'schen erreichen. Diese Körner verändern sich nach Ebstein nicht, wenn er die Schnitte in lauem Wasser digeriert, welchem Alkalien oder Säuren in

geringem Masse zugesetzt sind, auch krystallisiert Harnsäure aus den Schnitten nicht aus; dagegen giebt das wässrige Leberextrakt die Murexidprobe. In den Nierenepithelien dieses Hahnes fand Ebstein dieselben braungelben Körnchen. Die Epithelzellen, in welchen sie liegen, sind nicht normal, das Verhalten der Konkremente zum polarisierten Licht ist nicht angegeben.

Ganz ähnliche Ablagerungen fand Zaudy (l. c. p. 67) in der Leber eines Hahnes, der 12 Stunden nach beiderseitiger Ureterenligatur getötet worden war. Die Schnitte zeigten sich « übersät mit ziemlich grossen, dunkelbraunen, in dünneren Partieen gelben Konkrementhäufchen, die in dem Parenchym regellos verteilt waren; dieselben bestanden aus lauter kleinsten gelben Körnchen, welche ihre krystallinische Struktur durch doppelte Brechung des polarisierten Lichtes zu erkennen gaben. » Eine Degeneration des Leberparenchyms war nicht vorhanden, die Konkremente wurden nie im Gefässlumen oder in den Gefässwänden gefunden. Harnsäureablagerungen fand Zaudy in dieser Leber nicht, doch fielen aus dem alkalischen Leberextrakt bei Säurezusatz typische Uratkugeln in geringer Menge aus. In den Nieren dieses Hahns fand Zaudy nichts, wohl aber spärliche Ablagerungen von gleichem Aussehen in der Lunge und im Herzen. Er zweifelt nicht daran, dass es sich um denselben Befund handelt, wie ihn Ebstein erhoben hatte. Während nun letzterer Forscher, von den bereits angeführten Lösungsversuchen abgesehen, sich mit der Vermutung begnügte, dass die Körner eine Vorstufe der Harnsäure vorstellen könnten, suchte Zaudy ihre chemische Identität festzustellen.

Seine Körner zeigten mikrochemisch eine positive Berlinerblaureaktion, während die Gmelin'sche Probe auf Gallenfarbstoff negativ blieb. Löslich erwiesen sich die Ablagerungen in concentrierter Salzsäure, Schwefelsäure, weniger gut (nach mehreren Stunden) in concentrierter Salpetersäure, unlöslich dagegen in kaltem und heissem Wasser mit und ohne Säurezusatz, in Alkohol, Aether, Chloroform, Ammoniak, Essigsäure (50 %), Kalilauge (10 %) und in Formol + Müller'scher Flüssigkeit. Ein salpetersaures Extrakt vieler Leberschnitte hinterliess beim Eindampfen einen citronengelben Fleck, der sich auf Zusatz von Natronlauge orange färbte; eine weitere Rotfärbung trat nicht ein. Auf Zusatz von Argentum nitricum zu dem salpetersauren Extrakt krystallisierten nach Abdunsten über Schwefelsäure mikroskopisch kleine teilweise in Rosettenform angeordnete Nadeln aus, welche das Aussehen des salpetersauren Guanin's zeigten. Salpetersaures Extrakt über Schwefelsäure abgedunstet, ergab einige feinste mikroskopische Nadeln, eine salzsaure Lösung der Konkremente lieferte,

in der selben Weise behandelt, nichts. Bei Hinzufügen von Platinchlorid zu dem salzsauren Extrakt und Abdunsten über Schwefelsäure bildeten sich dagegen lange gelbliche Nadeln, welche sich beim Lüften der Glasglocke sofort auflösten. Die nach BRÜCKE angestellte Guaninprobe fiel « bis auf das definitive Eintreten der blauen Farbe positiv aus : bei jedem Tropfen zugefügter Kalilauge erscheint ein prachtvolles Purpurrot, das nach Umrühren allmählich verschwindet. » Aus diesen Versuchen zieht ZAUDY den Schluss, dass die Konkremente « aus Xanthinbasen (vielleicht Guanin), und zwar aus einer Verbindung derselben mit einem eisenhaltigen Blutfarbstoffderivat » bestehen.

Ich habe den Befund von ZAUDY so ausführlich wiedergegeben, weil die von mir untersuchten Konkremente in ihrem physikalischen und chemischen Verhalten eine ausserordentliche Aehnlichkeit mit denen von ZAUDY haben, und weil ich später bei der Erörterung meines Befundes diesen zum Vergleich heranziehen will.

Die von mir untersuchten gelbrostbraunen Körner in den Lebern erwiesen sich im polarisierten Licht als anisotrop, jedoch nicht in ihrer ganzen Ausdehnung. Die bei gekreuzten Nicols leuchtenden Stellen waren fast stets kleiner, als die Konkremente resp. Konkrementhäufchen bei gleichgerichteter Achse der Prismen. Die feinkörnigen helleren Massen in den Lebern der fleischgefütterten Hühner sowie die gleichen Körnchen in den Nierenepithelien liessen keine Polarisation des Lichtes erkennen; trotzdem möchte ich sie, sowohl wegen ihres Aussehens, als auch wegen ihrer Lagerungs- und Lösungsverhältnisse, sowie nach den mikrochemischen Reaktionen als aus demselben Stoff wie die gelbrostbraunen Körner bestehend betrachten.

Zunächst suchte ich das Verhalten der Ablagerungen gegen die Gallen- und Blutfarbstoffreaktionen festzustellen.

Die Gallenfarbstoffprobe wurde von mir nach GMELIN in der Weise angestellt, dass ich zu einem Gefrierschnitt resp. einem entparaffinierten und allmählich in Wasser (s. o.) übertragenen Paraffinschnitt unter dem Deckglase von einer Salpetersäure zufliessen liess, welcher 2 oder 3 Tropfen rauchende Salpetersäure beigemischt waren. An einer ikterischen Menschenleber hatte ich unmittelbar vorher mit derselben Lösung die mikrochemische Reaktion eingeübt und die prachtvollen Nuancen der GMELIN'schen Farbenskala beobachtet. Die oft wiederholte Reaktion erwies sich jedoch an den braunen Körnchen in der Leber sowie an den helleren in Leber und Niere stets als völlig negativ.

Die zur Hämosiderinprobe benützten Schnitte wurden mit allen

notwendigen Vorsichtsmassregeln behandelt. Es waren ebenfalls teils Paraffin- teils Gefrierschnitte. Nach ZALESKY (24) wird durch Schneiden der Gewebe mit einem Stahlmesser kein Eisen in die Schnitte hineingebracht. Von dem Mikrotommesser wurden die Schnitte mit Glasnadeln auf die Objektträger sowie durch die verschiedenen Reagentien übertragen. Zur Feststellung des Eisengehalts wurde zunächst die von QUINKE (25) und auch von KUNKEL (26) empfohlene Methode der Behandlung mit Schwefelammonium benützt. Dieselbe erwies sich als ausgezeichnet für die sofortige Betrachtung der Schnitte, musste aber für die gefärbten Präparate anderen Methoden weichen, da mir die von ZALESKY (27) angegebene etwas zeitraubende Färbungsweise solcher Präparate erst spät bekannt wurde, und ich nach den Erfahrungen von SAMOJLOFF (28) wenig davon erhoffte. Für die später zu färbenden Präparate verwandte ich die von STENDER (29) angegebene und auch von SAMOJLOFF (28) empfohlene Methode der Berlinerblaureaktion: 1/2-stündiger Aufenthalt der Schnitte in 1,5 % Ferrocyankaliumlösung, darauf kurze Behandlung (1 Min.) mit 0,45 % Salzsäure. Ausserdem wurde noch eine von TIRMANN als beste empfohlene Turnbullsblaureaktion angewendet, wie sie WESSLING (30) beschrieben hat. Die Schnitte kamen 2—10 Minuten in unverdünntes gelbes Schwefelammonium, dann nach Abspülen mit destilliertem Wasser in eine mit Salzsäure schwach angesäuerte 15 % Ferricyankaliumlösung. Beide Reaktionen erwiesen sich als sehr gut und gegenüber einer nachfolgenden Färbung der Schnitte mit Haematoxylin resp. Haematoxylin-Eosin als standhaft, wenngleich die Farbenintensität und scharfe Begrenzung der Körner nicht völlig unbeeinträchtigt blieb.

Gegen alle diese Reaktionen verhielten sich die grossen Körner in der Leber, sowie die kleineren in Leber und Niere schnell und sicher positiv. Dabei fiel auf, dass die feinkörnigen Ablagerungen nach der Behandlung der Schnitte mit Schwefelammonium ausserordentlich häufige sind, anscheinend weit häufiger, als man bei der Betrachtung der ebenso stark vergrösserten Präparate vor Anstellung der Probe es vermutete. Diese Erscheinung ist aber offenbar nicht darauf zurückzuführen, dass vorher farblose, daher unsichtbare Massen, nun erst in Erscheinung traten, sondern es handelte sich offenbar nur um ein Deutlicherwerden gelbgefärbter und sichtbarer Körper; denn bei der aufmerksamen Durchsuchung der nicht behandelten Schnitte unter starker Vergrösserung, waren immer eine solche Masse von Ablagerungen zu sehen, dass man ihre dichte Lagerung im behandelten Schnitt, wo sie sich nur viel deutlicher abhoben, als entsprechend bezeichnen musste. Dagegen zeigte es sich als ganz

zweifellos, dass durch die Turnbullsblauprobe eine viel grössere Menge von Ablagerungen gefärbt wurden, als durch die Reaktion auf Berlinerblau; und zwar waren dies immer nur kleine Körnchen in Leber und Niere, während die grossen in der Leber und auch ein Teil der kleinen in Leber und Niere bereits durch die letztere Probe sich färbten.

Zur Bestimmung der Lösungsverhältnisse der Ablagerungen wurden die Schnitte in derselben Weise behandelt, wie es schon oben bei den schwarzen Massen beschrieben worden ist. Es ergab sich eine Löslichkeit der Konkremente in konzentrierter Salz- und Schwefelsäure, eine etwas schlechtere in ebensolcher Salpetersäure. Unlöslich zeigten sie sich (nach 24-stündigem Aufenthalt) in Wasser (auch bei halbstündigem Kochen) mit und ohne Zusatz von Salzsäure, in Alkohol, Aether, Chloroform, Essigsäure, Ammoniak, Kalilauge (10 %), Natronlauge (1,8 %), Xylol, Formalin (4 %), 1 % salzsaurem Alkohols, Natriumcarbonatlösung, sowie concentrierter Piperidin- und Piperazinlösung. Dabei verhielten sich die grossen gelbrostbraunen Körner in der Leber stets genau ebenso, wie die kleineren helleren Ablagerungen in Leber und Niere. In den Schnitten, welche 24 Stunden lang in den als nichtlösend genannten Substanzen gelegen hatten, konnte man die Anwesenheit der Ablagerungen nicht nur nachher mikroskopisch noch feststellen, sondern die Konkremente zeigten auch in allen Fällen gegenüber der Haemosiderinprobe das gleiche Verhalten, wie die anderen, welche nicht in diesen Flüssigkeiten gelegen hatten.

Alle weiteren Untersuchungen erstreckten sich allein auf die Leber, nicht nur wegen der ganz augenscheinlichen Identität der Ablagerungen in Leber und Niere, sondern hauptsächlich deswegen, weil bei den geringen Mengen der Körnchen in der Niere nicht darauf zu rechnen war, etwas Positives über sie nachweisen zu können. Es wurden grössere Stücke der Lebern fein zerrieben und nach einander je 24 Stunden mit Wasser, Alkohol, Aether und concentrierter Salz- resp. Salpetersäure ausgezogen. Die Extraktionsflüssigkeit wurde jedesmal abfiltriert und der Filterrückstand mit der neuen Extraktionsflüssigkeit vom Filter abgespült. An einer grossen Zahl gleichzeitig extrahierter Gefrierschnitte konnte man beobachten, dass die Körnchen bis zur Extraktion mit den Säuren noch in den Geweben und erst nach dem Verweilen in diesen verschwunden waren. Eine Veränderung, etwa ein Kleinerwerden der Körnchen oder eine Verringerung ihrer Zahl konnte dabei ebensowenig gefunden werden, wie bei den Lösungsversuchen, wo auch darauf geachtet wurde. Das Lebergewebe war also zunächst von allen wasser-, alkohol- und aether-

löslichen Substanzen befreit worden und in dem salpetersauren resp. salzsauren Extrakt waren die Körnchen *sicher* und leidlich rein in Lösung vorhanden. Mit diesen beiden Extrakten wurden nun (zunächst dem Gedankengange Zaudy's folgend) Versuche angestellt.

1. Einige Tropfen des salpetersauren Extraktes wurden im Exsiccator über Schwefelsäure abgedunstet. Es zeigten sich als Rückstand einige braungelbe Körner ohne krystallinische Struktur von starkem Glanz und doppelter Lichtbrechung, ganz ähnlich den ursprünglichen Concrementen. Spärlich sind vorhanden gelbgrünlich gefärbte konzentrisch geschichtete Sphaerokrystalle.

2. Zu einigen Tropfen desselben Extraktes wird eine Spur Argentum nitricum Lösung gesetzt. Die Flüssigkeit zeigt eine bald vorübergehende Trübung. Nach Abdunsten über Schwefelsäure sieht man mikroskopisch viele rosettenförmig angeordnete nicht polarisierende Nadeln, die im Kontrollpräparat von reiner Salpetersäure und der benützten salpetersauren Silberlösung ebenfalls vorhanden sind, ferner eine Anzahl gelbweisser polarisierender Krystalle; dies sind schmale rhombische Plättchen, die manchmal radiär gestellt sind, und ungefähr denen entsprechen, welche



Fig. 4.

Kossel (l. c. p. 278) als Adeninkrystalle abbildet (cf. Fig. 4). Ausserdem zeigten sich wieder bräunliche, stark lichtbrechende Körner.

3. Das salzsaure Extrakt, über Schwefelsäure abgedunstet, ergiebt mikroskopisch feine, an beiden Enden zugespitzte Nadeln, die oft rosettenförmig angeordnet sind und eine ganze Menge an den Enden

gespaltener Nadeln, welche ganz das Aussehen der von KOSSEL (p. 284) unter Kreatinin, aber auch unter Calcium (p. 297) abgebildeten Krystallformen haben. Auch hier fehlten die nicht krystallinisch gebauten braungelben stark lichtbrechenden Körnchen im Präparat nicht.

4. Dasselbe Extrakt mit gesättigter Pikrinlösung (1) über dem geschlossenen Wasserbade abgedunstet ergiebt breitere und schmälere sechsseitige Tafeln, die aber auch im Kontrollpräparat von reiner Salzsäure und der gesättigten Pikrinsäurelösung vorhanden sind.

5. Auf Zusatz von Platinchlorid zu dem salzsauren Extrakt und Abdunsten über Schwefelsäure erscheinen stark polarisierende gelbe Körnchen ohne krystallinische Begrenzungsflächen, die rasch zerfliessen.

Mit dem salpetersauren Extrakt wurde die « Xanthinprobe » (MARCET, LIEBICH und WÖHLER), die nach STRECKER auch für das Guanin giltig ist, angestellt (cf. HUPPERT l. c. p. 341-42). Auf Eindampfen über dem Wasserbade zeigte sich ein citronengelber Rückstand, der sich in Natronlauge gelbbraun, mit einem Stich in's Rötliche, löste. Eingedampft blieb ein missfarbener graugelber Fleck, anstatt dass eine violette Farbe auftrat (BRÜCKE). Diesen Ausfall der Probe, den ich immer und immer wieder erhielt, betrachtete ich als negativ.

Um technische Fehler nach Möglichkeit auszuschliessen, stellte ich die Reaktion mehrmals mit Xanthin. pur. an und erhielt sie jedesmal bis zum Schluss in der schönsten Weise. Als ich dann einigen Tropfen meines salpetersauren Extraktes eine gewisse Menge reines Xanthin beimischte, die mehr als doppelt so gross war, wie diejenige, welche die Probe vorher positiv ergeben hatte, verlief diese nun trotzdem in der oben geschilderten unzureichenden Weise. ZAUDY, der ungefähr denselben Erfolg hatte (s. o.), betrachtet seine Probe als positiv, WEINLAND (32) thut dies sogar, — wie ZAUDY bemerkt — sobald auf Eindampfen mit Salpetersäure ein citronengelber Rückstand bleibt, der auf Zusatz von Ammoniak sich tief gelbrot färbt. Ich möchte mich dem nicht anschliessen, sondern kann nach den angegebenen Versuchen die Farbenreaktion auf Xanthin-Guanin nur als völlig unzureichend für die Erkennung kleiner Mengen dieser Körper in nicht ganz reiner Lösung bezeichnen. Die Murexidprobe, deren Wert ich an demselben Extrakt durch Zusatz reiner Harnsäure in gleicher Weise prüfte, zeigte genau dasselbe Verhalten.

Auch die Erfolge meiner Krystallisierungsversuche konnten mich

(1) Angeblich sehr sichere Methode, Guanin in dünnstere Lösungen zu erkennen (CAPRANICA) cf. HAMMARSTEN (31) (p. 119).

nicht zu der Ueberzeugung bringen, dass die Konkremente ganz oder teilweise aus Xanthinbasen bestehen. Vielleicht waren die Lösungen, mit deren ich arbeitete, zu dünn; ich konnte jedoch concentriertere nicht erlangen, da ich so wie so bei der Extrahierung immer mit möglichst kleinen Flüssigkeitsmengen arbeitete. Mendelson (33), mit dessen Bildern übrigens meine aus der salpetersauren Lösung auskrystallisierten Nadeln niemals übereinstimmten, hat allerdings unter weit besseren Bedingungen gearbeitet, da er nicht darauf angewiesen war, die Organe zu extrahieren, sondern soviel Material hatte, dass er die makroskopischen Krystallherde ausschneiden konnte und sie von den noch anhaftenden Muskelpartikelchen nur durch Trypsinverdauung befreien brauchte. Endlich stimmte die Löslichkeit meiner Konkremente nicht. Die Löslichkeit in Basen, welche allen Körpern dieser Gruppe in so hohem Grade eigen ist, dass sie als ein Charakteristikum bezeichnet werden kann, müsste hier verloren gegangen sein durch die Angliederung an einen eisenhaltigen Stoff, welchen die Haemosiderinprobe in den Körnern unzweideutig nachweist. Die Möglichkeit einer Veränderung der Ablagerungen (id est : Lösung der « Xanthinkörper ») durch das vorbereitende Ausziehen der Gewebe mit Wasser, Alcohol und Aether, ist wohl ausgeschlossen, da, wie bereits oben hervorgehoben, eine Gestalt- oder Grössenveränderung der Körner nach dieser Procedur nie wahrgenommen werden konnte. Dass der eisenhaltige Stoff aus dem Blute stammt, ist nach den Verhältnissen, unter welchen die fleischgefütterten Hühner lebten, wohl ohne weiteres als erwiesen zu betrachten, und es ist bisher nichts darüber bekannt, dass der eisenhaltige Blutfarbstoff jemals als Transportmittel für ein Produkt des N-Stoffwechsels im Organismus funktioniert, was hier der Fall sein würde.

Demnach konnte ich mich der Ansicht Zaudy's, mit dessen Körnern die meinigen nach Aussehen, Löslichkeit, Verhalten zum polarisierten Licht, Eisengehalt und dem grössten Teil der chemischen Reaktionen übereinstimmten, und der dieselben als die Verbindung eines Xanthinkörpers mit einem Blutfarbstoffderivat bezeichnete, nicht anschliessen. Ich suchte mir vielmehr eine andere Anschauung über die chemische Identität der Ablagerungen zu bilden.

Auffallend war mir der ausserordentlich schnelle und stark positive Ausfall der Eisenreaktion, sowie die Massenhaftigkeit des vorhandenen Materials. In Schwefelammonium färbten sich dünne Scheiben von Lebergewebe schwarzgrün, die ungefärbten mit Schwefelammonium behandelten Schnitte sahen grauschwarz, die mit Ferrocyankalium und Salzsäure behandelten tief dunkelblau aus. Deshalb ging ich daran, durch Lösung

des mit Schwefelammonium gefällten Schwefeleisens dieses auszuscheiden, um zu sehen, was übrig bleiben würde. Als ich zu einem mit Schwefelammonium behandelten Schnitt unter dem Mikroskop einen Tropfen concentrierter Salzsäure zufliessen liess, trat fast momentan eine Entfärbung des ganzen Schnittes ein; dabei konnte man eine Gasentwickelung (Ansammlung von kleinen Bläschen, (H_2S) unter dem Deckglase) beobachten. Bei starker Vergrösserung verfolgte ich, wie innerhalb weniger Sekunden die kleineren Körner völlig verschwanden, während an Stelle der grossen ein sehr schwacher blass graugelber Schatten zurückblieb, der sich nach 2—5 Minuten ohne Rest löste. Bei Anwendung einer schwachen (0,45 %) Salzsäurelösung verschwanden die kleinen Körnchen in höchstens einer Minute; die grösseren leisteten länger Widerstand, wurden erst blassgrau, dann ganz durchsichtig, behielten aber die frühere Gestalt völlig bei. Wenn ich jetzt Ferrocyankalilösung seitlich zufliessen liess, so trat Blaufärbung dieser Reste nicht ein, ebenso liess sich die Turnbullsblaureaktion nicht mehr erzielen; die Schatten lösten sich aber auch in Natronlauge nicht, sondern verschwanden erst völlig beim weiteren Zusatz von Salzsäure. Einige Male beobachtete ich bei solchen oft wiederholten Versuchen Schatten, welche eine geringe Granulierung zeigten und sich überhaupt nicht lösten, so dass ich geneigt war, dieselben für Leukocyten zu halten, mit denen sie auch nach der Grösse übereinstimmten. Schwefelwasserstoffwasser färbte die Körner ebenfalls, je doch weniger intensiv, als Schwefelammonium. Im Uebrigen zeigten die so behandelten Körner das gleiche mikrochemische Verhalten.

Als *sicheres* Ergebnis aus diesen Untersuchungen ist demnach festzustellen, dass die in der Leber, wie in der Niere vorhandenen Ablagerungen Eisen enthalten und zwar hauptsächlich als *Ferri-* zum kleineren Teil als *Ferro*verbindung. Die Menge des Eisens ist im Verhältnis zu der Konkrementmasse ausserordentlich gross, es bildet den bei weitem grössten Teil der Ablagerungen; die kleineren Körner bestehen völlig aus Eisen, denn nach Fällung mit Schwefelammonium lösen sie sich in Salzsäure ohne Rest. Bei manchen der grösseren Körner ist ein Gerüst (oft anscheinend ein Leukocyt) vorhanden, in welches das Metall eingelagert ist. Die Bindung des Eisens ist eine extramolekuläre (in ionaler Form).

Da der Befund bei *allen* fleischgefütterten Hennen und in etwas geringerem Grade auch bei *allen* Tieren mit genuiner Gicht erhoben werden konnte, so lag es auf der Hand, dass es sich nicht um einen zufälligen Nebenbefund handelte, und dass er mit dem Krankheitsprocess in ursächlichem Zusammenhang stehen musste.

Zum Vergleich wurden Leber und Nieren der beiden gesunden mit Körnern gefütterten Kontrolltiere herangezogen. Hier fanden sich in der Leber ausserordentlich spärlich gelbliche Körnchen, meist in der unmittelbarsten Umgebung der Gefässe (Gefässscheide?), die ebenfalls die Berlinerblaureaktion gaben, und ihr Lösungsverhältnis war nach Fällung mit Schwefelammonium dasselbe, wie das der Ablagerungen in den kranken Lebern. In der Niere beider Kontrolltiere konnte ich Körnchen nicht finden. Die Ablagerungen waren übrigens bei der älteren Kontrollhenne zahlreicher als bei der jungen, und bei ihr waren auch die Nierenepithelien nicht immer gut färbbar. Man kann dies vielleicht schon als nicht mehr normal bezeichnen, darf sich aber bei dieser alten Henne nicht darüber wundern; denn es ist, wie schon oben bemerkt, eine häufig gemachte Erfahrung, dass unter unserem domestizierten Geflügel, das alles frisst, was es nur erreichen kann, nur selten vollkommen gesunde und normale Tiere gefunden werden.

Zaudy sah solche Körnchen bei normalen Tieren nie, dagegen beschreibt er bei seinem Hahn C (l. c., p. 76) gelbe Ablagerungen, welche die Berlinerblaureaktion sehr schnell und sicher geben, aber das Licht nicht polarisieren, weshalb er sie nicht weiter untersuchte. Minkowski (34) und Naunyn (34) fanden bei der normalen Ente und Gans in den Leberkapillaren, nicht selten anscheinend in Zellen eingeschlossen, rostfarbenes Pigment, das eisenhaltig ist. Dieser Befund der dem meinigen an den normalen Hühnern entspricht, ist sehr gut zu verstehen, wenn man nur an die Bestimmung der Leber denkt, das Eisen im Organismus auszuscheiden [cf. z. B. Zalesky (35)], sei es um dasselbe zur Ausstossung aus dem Körper zu bringen, sei es dasselbe dem Kreislauf behufs Verwendung beim Aufbau der roten Blutkörperchen wieder zuzuführen.

Eine so kolossale Anhäufung von Eisensalzen, wie sie die von mir untersuchten gichtkranken und besonders die fleischgefütterten Hühner zeigen, ist allerdings sicherlich pathologisch. Dass dieses Eisen nur aus dem Blute herrührt und, abgesehen von der in dem Fleisch enthaltenen geringen Metallmenge, bestimmt nicht etwa von den Versuchstieren während der Gefangenschaft mit dem Futter aufgenommen worden sein kann, darauf ist schon oben hingewiesen worden.

Nach Ziegler (16) werden bei gesteigertem Zerfall von roten Blutkörperchen die Zerfallsprodukte vornehmlich in den Kapillaren der Leber, Milz, Lymphdrüsen und des Knochenmarks, spärlicher in den anderen Organen zurückgehalten und früher oder später von Zellen aufgenommen. Steigert sich der Zerfall ausserordentlich, so kann die Leber den an sie

gestellten Anforderungen, den Blutfarbstoff durch die Galle zu entfernen, nicht mehr nachkommen, und die Derivate desselben werden teils in der Leber, teils in anderen Organen abgelagert, teils auch durch die Nieren ausgeschieden. Die von Ziegler (l. c., p. 252-53) gegebenen Abbildungen entsprechen meinen Präparaten vollkommen. Auch die Lage meiner Körner hauptsächlich in den Leberkapillaren, weiterhin aber in den Leberzellen und besonders in der Umgebung der portalen Gefässe, sowie in der Niere in den gewundenen Kanälchen stimmt mit den Angaben von Ziegler völlig überein.

Solche Befunde von Eisenablagerungen sind von einer ganzen Anzahl von Autoren bei den verschiedensten Krankheiten, welche das Blut schädigen, gemacht worden. Quincke (36) insbesondere fand sie öfter bei perniciöser Anämie in Leber und Niere, ferner nach Typhus (25) mit chronischem Hydrocephalus, bei Kachexie und Anaemie nach chronischer Diarrhoe, Myelitis cervicalis, Phthisis pulmonum, Encephalitis haemorrhagica mit acuter Pneumonie und Nephritis; desgleichen Peters (37) bei Granularatrophie, chronischem Lungenleiden mit amyloider Degeneration, Darmkatarrh bei Kindern, Typhus, Meningitis spinalis, haemorrhagischer Diathese, perniciöser Anämie, Lungenœdem infolge sich Ertränkens und bei einem ikterischen Kinde mit Lues, das am 2. Lebenstage gestorben war; schliesslich Minkowski und Naunyn (34) bei Vergiftung mit Arsenwasserstoff im Tierversuch.

Die Ausscheidung des Eisens durch die Niere betont dabei ausser Quincke (25) noch Glaevecke (38) nach Eiseneinspritzungen. Buss (39) fand bei einem Falle von Diabetes mellitus Ablagerungen « von eisenhaltigen Pigment » ausser in Leber und anderen Organen auch noch in der Niere.

Wie also die genannten Autoren bei diesen verschiedensten Krankheiten, die teils akuten Charakters und von hohen Fieberbewegungen begleitet, teils langsam am Körper zehrend und chronisch verlaufend ihr Zerstörungswerk vollbringen, Eisenablagerungen in den inneren Organen besonders in der Leber und auch in der Niere fanden, so erweisen sich nach den geschilderten Befunden auch die durch Fleischfütterung bei Hühnern hervorgebrachte gichtartige Erkrankung ebenso wie die genuine Vogelgicht als Krankheitsprocesse, welche eine « Siderosis » der Organe, wie es Quincke genannt hat, zustande kommen lassen.

Quincke unterscheidet als Möglichkeiten für das Zustandekommen der Eisenaufspeicherung in der Leber entweder gesteigerte Zufuhr von Eisen zu derselben, oder ein Daniederliegen der Lebersekretion, oder

endlich eine Combination beider Momente. Für die akuter verlaufenden Krankheiten nimmt er die erste, für die chronischen die zweite oder dritte Möglichkeit an. Auch in unserem Falle dürfte man wohl nicht fehlgehen, wenn man zunächst an eine mangelhafte Leberfunktion und erst in zweiter Linie an eine Combination dieser mit einer gesteigerten Eisenzufuhr (id est : Blutzerstörung) denkt. In den Leber- und Nierenschnitten der fleischgefütterten Hühner habe ich öfter grosse kernhaltige Zellen in den Blutgefässen gesehen, die vielleicht den Megaloblasten entsprechen und die ich im normalen Hühnerblut nie finden konnte, jedoch will ich mich jedes Urteils in dieser Beziehung enthalten. Das andere Moment einer mangelhaften Leberfunktion ist bei dem ausserordentlich dekrepiden Zustande, in welchem sich die fleischgefütterten Tiere befanden und der langen Dauer der Krankheit sowie der atrophischen Beschaffenheit des Lebergewebes dieser Hühner wohl ohne weiteres als erwiesen zu betrachten. Bei den an genuiner Gicht zu Grunde gegangenen Hennen wo diese Merkmale nicht so hervortreten, wird man vielleicht geneigt sein, einen etwas akuteren Krankheitsprocess anzunehmen und auf dessen blutschädigende Wirkung mehr Gewicht zu legen.

Nach Ziegler sind die eisenhaltigen Körner in der Niere, auch in den Kapselwänden gefunden worden; ich konnte sie dort nie entdecken, sondern habe sie stets nur in den Epithelzellen der gewundenen Kanälchen gefunden, wie es der Heidenhain'schen Sekretionstheorie ja auch entsprechend wäre.

Die meisten Autoren nehmen bezüglich der chemischen Form, in welcher die haematogenen Eisenablagerungen in den Geweben vorkommen, wohl an, dass diese das Eisen in organischer Bindung enthalten. Nur Kunkel (26) hält die von ihm untersuchten, übrigens auch in dre Leber und in den grossen Drüsen gefundenen und als den meinen sehr ähnlich geschilderten Körnchen für Eisenoxydhydrat. Er thut dies, weil die Körnchen sich ohne Rest in Salzsäure lösen, gelbbraun aussehen und mit Schwefelammonium den schwarzen Niederschlag geben. Diesen Eigenschaften entsprechen meine kleinen Körner in Leber und Niere völlig, während bei den grösseren vielleicht die Annahme einer organischen Bindung (Schatten!) eher als gerechtfertigt erscheint. Ferner erweisen meine Versuche, wie schon hervorgehoben, dass das Eisen nicht nur als Oxyd, sondern auch als Oxydul in Leber und Niere vorhanden ist.

Was nun die Befunde von Ebstein und Zaudy anbelangt, so glaube ich, dass es sich in beiden Fällen um denselben Körper handelt, den auch ich untersucht habe. Zaudy legt einen besonderen Wert auf die doppelte

Lichtbrechung seiner Körnchen, « die für die krystallinische Struktur » spräche. Meine Körner, die untereinander chemisch völlig gleich sind, zeigen dieses physikalische Phänomen nur teilweise, trotzdem bin ich wegen der übereinstimmenden Lösungsverhältnisse und nach dem Ausfall der Reaktionen fest überzeugt, dass sie nicht nur alle untereinander, sondern auch denen von ZAUDY untersuchten gleich sind. Dass das Polarisationsvermögen *allein* nichts für die krystallinische Struktur beweist, dafür spricht die Erfahrung, dass bestimmte Gewebe, wie z. B. Teile der Muskelprimitivfaser diese physikalische Eigenschaft besitzen, während es andererseits auch nicht polarisierende Krystalle (s. o.) giebt. So wertvoll das Polarisationsvermögen für die Untersuchung von chemischen Körpern in Geweben sein mag, so wenig kann man es wohl zur Unterscheidung zweier Körper heranziehen, die so viele chemische Eigenschaften mit einander gemein haben. Sowohl bei EBSTEIN als bei ZAUDY stellten die gelbbraunen Ablagerungen lediglich einen Nebenbefund dar. Beide Forscher konnten den Befund in einer Versuchs*reihe* immer nur je einmal erheben, während hingegen bei den fleischgefütterten Hühnern KIONKA's und den Gichthennen der Befund ein konstanter war. EBSTEIN erklärt ausdrücklich, dass der von ihm operierte Hahn, in welchem die Körner gefunden wurden, vorher nicht — wie es mit seinen Versuchshähnen sonst stets geschah — bei Gerstenfütterung mehrere Tage auf seinen Gesundheitszustand beobachtet worden ist, sondern giebt an (l. c., p. 65), dass es nur « anscheinend gesund » war. Auch bei ZAUDY findet sich keine Angabe über eine vorherige Beobachtung des Hahnes F, welcher die Ablagerungen in der Leber zeigte. Beide Male handelte es sich offenbar um Tiere, die an einer das Blut schädigenden Krankheit gelitten hatten; so erklärt es sich auch sehr einfach, warum die Befunde so selten gemacht wurden.

Wenn man aber auch annehmen will, dass die Ablagerungen ZAUDY's mit den meinigen nicht identisch sind, so kann man bei der Anordnung der Versuche ZAUDY's, der offenbar die Leber *sofort* mit Salpetersäure auszog, doch noch nicht zu dem Schluss kommen, dass seine Körner aus Xanthinbasen bestehen. Sieht man selbst noch die unvollständig verlaufenen Reaktionen und die zweideutigen Auskrystallisierungsprodukte als positiv und beweisend an, so könnten die Xanthinkörper ja auch aus dem Leber*gewebe* extrahiert worden sein, in welchem sie normaler Weise in geringer Menge vorhanden sind (HAMMARSTEN (31) p. 118-119). Aber sollte man auch darüber hinwegsehen, so bliebe die kolossale Menge des abgelagerten Eisens immer noch bemerkenswert und die Thatsache einer Siderosis bestehen.

4. Ablagerungen im Unterhautzellgewebe.

Hier möchte ich Gelegenheit nehmen, eines Befundes Erwähnung zu thun, der sich bei einer ureterenunterbundenen Henne (deren Protokoll nicht in die Arbeit aufgenommen ist) ebenso wie bei der älteren gesunden Kontrollhenne vorfand. Es sind diese im Unterhautzellgewebe auf den Muskeln liegende, ausserordentlich zahlreiche und über den ganzen Körper zerstreute flache, weisse Konkremente, teils stecknadelkopfgross, teils die Grösse eines Hirsekorns erreichend. Die Körperchen bestehen aus phosphorsaurem Kalk und sind auch von Kionka (40) bei 3 seiner 5 mit Kalk gefütterten künstlich gichtkrank gemachten Hühnern gefunden und beschriebenen worden. Kionka war damals geneigt, sie auf die Kalkfütterung zu beziehen, es hat sich jedoch herausgestellt, dass es sich nicht um ein specifisches Krankheitsprodukt, sondern um die verkalkte Kapsel einer Milbe Laminoscoptes (Sarcoptes) cysticola handelt, und dass der Befund auch bei ganz gesunden Hühnern nicht selten sein soll. Herr Dr. Kionka hat mich beauftragt, dies zugleich in seinem Namen richtig zu stellen.

5. Graugrüne Ablagerungen in den Gallengängen.

In allen von mir untersuchten Lebern fand ich gelegentlich graugrünliche Körnchen in den Gallengängen, die ich ohne weiteres als Gallenfarbstoff ansprach. Wegen der Bedeutungslosigkeit des Befundes habe ich eine genaue Schilderung an den einzelnen Stellen unterlassen. Die mikrochemische Probe nach Gmelin, die in der oben angeführten Weise angestellt wurde, bestätigte mir in mehreren Fällen das Vorhandensein derartiger spärlicher und feiner Gallenfarbstoffkörnchen in den Schnitten.

IV. Zusammenfassung.

Aus der histologischen Untersuchung ist also folgendes Ergebnis festzustellen. In der Leber und Niere der Hennen mit *genuiner Gicht* findet sich eine sehr mässige, nur bei Henne B stärker ausgeprägte diffuse parenchymatöse und interstitielle Entzündung, die mit kleinen Ablagerungen von Uraten in z. T. nekrotisches Gewebe einhergeht. Solche Ablagerungen sind bei B auch in der Milz vorhanden. In den Nieren finden sich ferner im Lumen der Harnkanälchen Massen von Uratkugeln angehäuft, und in allen Organen sind mehr oder weniger, besonders häufig in den Lebern, eisenhaltige Körner sichtbar. Endlich ist die Anwesenheit von Uratkugeln im Gallenblaseninhalt bemerkenswert.

Auch bei den *fleischgefütterten Hühnern* finden wir geringe entzündliche Veränderungen und teilweise ausgesprochen herdweise Nekrosen, sowie Eisenablagerungen in Leber und Niere. Ein Urteil über Harnsäureablagerungen bei diesen Hühnern kann wegen der Aufbewahrungsart der Organe nicht abgegeben werden. KIONKA (12) (p. 196) fand seiner Zeit in frischen Schnitten viele Uratkugeln in den Nierenkanälchen, konnte jedoch nadelförmige Ablagerungen in einigen der daraufhin untersuchten Lebern und Nieren nicht feststellen; die stellenweise nachgewiesenen Nekrosen (cf. Leber 10) lassen sie allerdings vermuten.

Die makroskopischen pathologisch-anatomischen Befunde der von mir untersuchten Gichthennen und der fleischgetütterten Hühner sind ebenfalls so übereinstimmend, dass man *thätsachlich das pathologisch-anatomische Bild als das gleiche bezeichnen darf.*

Charakteristisch für dieses Bild ist pathologisch-anatomisch vor allem die Ablagerung von Uraten auf den serösen Häuten, (Pleura, Peritoneum und Synovia), ferner die Anhäufung von Uratkugeln in den Nierenkanälchen, eine geringe diffuse entzündliche Veränderung der Leber und Niere und erst in letzter Linie die Ablagerung von Uratkrystallen in den Geweben. Letztere sind offenbar manchmal selbst bei hochgradigen Erkrankungen nicht vorhanden oder sehr spärlich (Henne A). Auch der negative Befund in den Brusthöhlenorganen bei den Gichthennen sowie in den Muskeln weisen darauf hin, dass die Harnsäureablagerungen in den Geweben erst von sekundärer Bedeutung sind.

Es fällt auf, dass alle harnsauren Salze auf den serösen Häuten und in den Lymphbahnen, die mit jenen durch die Mikrostomata in Verbindung stehen, niedergeschlagen sind; man muss demnach daran denken, dass das Lymphsystem ein von der Harnsäure bevorzugter Aufenthaltsort ist. Auch FREUDWEILER (l. c., p. 41) bekam bei seinen experimentellen Studien über die Entstehung der Gichtknoten den Eindruck, als ob ein Teil der Einlagerungen, besonders diejenigen, welche keine reaktiven Gewebsveränderungen hervorbringen, die Lymphbahnen anfüllten. Vermutlich sind diese letztgenannten Ablagerungen postmortaler Natur. Von nicht geringerem Interesse ist die Beobachtung von Harnsäureconcrementen im Gallenblaseninhalt, die eine neue bisher nicht gewürdigte Seite der entgiftenden Funktion der Leber offenbart.

Hält man all diese Befunde gegen das oft beschriebene Bild der Organe einer nach Nierenausschaltung zu Grunde gegangenen Henne, so muss man eingestehen, dass pathologisch-anatomisch ein Unterschied wesentlicher Natur nicht besteht. Sowohl die mit doppelseitiger Ureteren-

unterbindung behandelten Tiere als auch diejenigen, welche nach Einspritzung differenter Lösungen erkranken, zeigen die Uratablagerungen auf den serösen Häuten (1) und in den Geweben, endlich die starke Füllung der Nierenkanälchen mit Uratkugeln allerdings viel reichlicher. Nur die geringfügige diffuse Organentzündung in Leber und Niere, sowie die Eisenablagerungen in den Organen sind nicht wiederzufinden. So ähnlich aber die pathologisch-anatomischen Befunde sind, so wenig wahrscheinlich ist es doch, dass die Ursache für beide die gleiche sei, nämlich eine Ausschaltung der Nierenthätigkeit. Denn die Nieren der Gichthennen sowohl wie der fleischgefütterten Hühner erwecken im mikroskopischen Bilde nicht den Eindruck, als ob sie bis zur Gebrauchsunfähigkeit erkrankt wären; die Veränderungen sind vielmehr so geringfügig, dass man viele Stellen derselben von normaler Nierensubstanz gar nicht zu unterscheiden vermag. Es muss also hier ein anderer Process stattgefunden haben, der nicht auf grob pathologisch-anatomischer Grundlage beruht, welcher aber die Ansammlung der Harnsäure und ihre Ablagerung im Körper zur Folge hatte, mag derselbe auf eine übermässigen Bildung von Harnsäure oder auf eine Herabsetzung der Fähigkeit des einen oder anderen Organs, sie zu zerstören, zurückzuführen sein. Bei den fleischgefütterten Hühnern giebt der grosse Eiweissreichtum der Nahrung einen Hinweis darauf, auf welchem Gebiete des Stoffwechsels der Defekt zu suchen ist. Was nun bei diesen Hennen der Organismus zu bewältigen imstande ist weil es ihm in zu reichem Masse zugeführt wird, das kann er offenbar bei den gichtkranken Hühnern die auf gleiche Weise gefüttert wurden wie eine Menge gleicher Hennen, die gesund blieben, schon bei gewöhnlichem Eiweissreichtum der Nahrung nicht leisten. Es muss sich also um eine Störung auf dem Gebiet des Eiweissstoffwechsels handeln. Dass sich eine solche bei den fleischgefütterten Hühnern entwickelt hat, beweisen die Stoffwechselversuche Kionka's an diesen Tieren, der nachwies, dass mit dem Fortschreiten der Erkrankung ein beständiger Verlust an Körperstickstoff trotz der sehr eiweissreichen Nahrung Hand in Hand geht.

Nach den Untersuchungen von Zaudy schien es, als ob die Organe der Uratstauungshennen Gelegenheit bieten würden, die von Minkowski und v. Mach (cf. Hammarsten l. c. p. 264) wahrscheinlich gemachte

(1) Dass dies wirklich *Uratablagerungen* sind und nicht Niederschläge von phosphorsaurem Kalk hat Kossa (42) gegenüber der Behauptung einiger italienischer Forscher erst neuerdings wieder nachgewiesen.

Anschauung, dass die Harnsäure über die Xanthinkörper als Mittelstufe hinweg entstehe, zu beweisen durch den Nachweis krystallinischer Niederschläge von Xanthinbasen in den Leber, dem Hauptbildungsorte der Harnsäure. Die vorliegenden Untersuchungen sprechen nicht dafür. Dagegen ergiebt sich aus ihnen der Hinweis auf die blutschädigende Wirkung der Kranheitsprocesse sowohl bei der genuinen als auch der künstlich durch Fleischfütterung erzeugten Vogelgicht.

Die gegenüber den Befunden bei Uratstauung ausserordentlich spärlichen Ablagerungen harnsaurer Salze (meine Uratstauungshennen sind vor völliger Ausbildung des Krankheitsbildes getötet) bei den an genuiner und künstlicher Gicht erkrankten Hühnern weisen hinlänglich darauf hin, dass die *Harnsäureablagerungen etwas* **Sekundäres** in diesem stets zum Tode führenden Krankheitsprocesse darstellen. Als das eigentliche Wesen der genuinen wie der künstlich durch Fleischfütterung erzeugten Vogelgicht kann man demnach lediglich die Stoffwechselstörung ansehen. Auf dem Gebiete des Stoffswechsels am — idiopatisch oder durch Fleischfütterung — gichtkranken Huhn werden sich deshalb die weiteren Untersuchungen bewegen müssen.

Hoffmann (44) der durch Fleischfütterung nach dem Vorbilde Kionka's bei Hühnern etwa dieselben Erfolge erzielte, wie dieser, hat seine gichtkranken Hennen teilweise dazu benützt, um die Wirkung der Salzbrunner Kronenquelle auf den kranken Vogelorganismus zu studieren und seine Schlüsse für die Arthritis urica des Menschen daraus zu ziehen. Nun ist es bei der verschiedenartigen Rolle, welche die Harnsäure im Stoffwechsel des Säugers und des Vogels spielt, allerdings stets gewagt, Analogieschlüsse aus der Physiologie und Pathologie des einen für die des anderen zu ziehen, indessen scheint hier doch mancherlei für die Gleichartigkeit des Processes zu sprechen. Dass ein prinzipieller Unterschied zwischen der Bildungsweise der Harnsäure im Vogel- und im Säugerorganismus nicht besteht ist erst durch die neuesten Untersuchungen von Wiener (45) dargethan worden, aber abgesehen von der Harnsäurebildung im tierischen Organismus scheint mir etwas anderes sehr viel wichtiger zu sein. Meine Untersuchungen weisen in Anschluss an die Kionka's mit absoluter Sicherheit darauf hin, dass das Primäre bei der *Vogelgicht* eine Störung im N-stoffwechsel ist. Auf dasselbe machen auch mehrere Forscher bei der menschlichen Gicht aufmerksam. So spricht sich auf dem XIII internationalen medizinisehen Congress zu Paris i. J. 1900, Le Gendre (46) Paris dahin aus, dass das Wesen der Gicht wohl nichts anderes sei als eine mangelhafte Verarbeitung der Stickstoffsubstanz in den Zellen, ein unvoll-

kommener Abbau des Eiweissmoleküls. DUCKWORTH (47) London verttrit ebenda die Anschauung, dass das Wesen der Gicht in einer Ernährungsstörung zu suchen sei, welche in unvollkommenem Stoffumsatz in gewissen Organen, vielleicht in der Niere und wahrscheinlich in der Leber, bestehe. Er meint, dass wohl eine trophoneurotische Beinflusssung der Zellthätigkeit vorhanden sein müsse, da die Histologie eine Erklärung dafür nicht geben könne. Auch STRÜMPELL (48) nimmt denselben Standpunkt ein in einem Vortrage auf dem mittelfränkischen Aerztetage zu Fürth im Juni 1900, in welchem er den drei Hauptgruppen der organisierten Nährstoffe : Kohlehydrate, Eiweiss und Fette, drei Anomalieen des Stuffumsatzes entgegenstellt : Glykosurie, Gicht und konstitutionelle Fettsucht. Es würde also die menschliche Gicht im wesentlichen ebenso wie die Vogelgicht als eine Anomalie des Eiweissstoffwechsels mit sekundärer Ablagerung von harnsauren Salzen in die Gewebe zu betrachten sein. Dass die Harnsäureablagerungen auch bei der menschlichen Gicht etwas *Sekundäres* sind, darauf weisen die von KLEMPERER u. A. bei Gichtikern ausgeführten Blutuntersuchungen hin. Ob bei der menschlichen Gicht auch eine Siderosis auftritt, darüber fehlt in der Litteratur jeder Hinweis. Die Beobachtung von JOLLES und WINKLER (49), die eine auffallende Eisenausscheidung durch den Harn bei verschiedenen Krankheiten, darunter auch im Gichtanfalle feststellten, lässt dies jedenfalls vermuten.

Analogieschlüsse von der Vogel- auf die Menschengicht dürften nach dem Gesagten also wohl zulässig sein. Allerdings ist es wohl nicht angebracht, solche Schlussfolgerungen aus einer so kleinen Versuchsreihe zu ziehen, wie es HOFFMANN (44) thut, der die Wirkung der Salzbrunner Kronenquelle an nur einer einzigen Henne beobachtet.

Für die Gichtforschung, insbesondere für die therapeutischen Versuche zur Behandlung der Gicht erscheint es als äusserst wertvoll, dass in der künstlichen, durch Fleischfütterung hervorgerufenen Vogelgicht — und nur *diese* möchte ich so bezeichnen, nicht auch den Zustand der Uratstauung wie er vor den Versuchen KIONKA's stets experimentell erzeugt wurde — ein Process gefunden ist, der sowohl der genuinen Vogelgicht als der Arthritis urica des Menschen im wesentlichen gleichwertig zu sein scheint(1), dass also zu jeder Zeit ein gichtkrankes Vogelmaterial von beliebiger Menge hergestellt werden kann, an welchem Untersuchungen angestellt werden können, die auch einen Wert für die Pathologie und Therapie der menschlichen Gicht haben.

(1) Vergl. auch ROSIN (50).

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Filehne, dem Direktor des Instituts, für das dieser Arbeit entgegengebrachte Interesse, sowie Herrn Privatdocent Dr. Kionka für die gütige Anregung zu der Arbeit, die Ueberlassung seines Materials und die vielfache Unterstützung meinen besten Dank auszusprechen.

Breslau, 12 Juni 1901.

Litteratur.

(1) Galvani, citiert nach Ebstein (cf. 7) p. 54.
(2) Zalesky : *Ueber den uraemischen Process*. Tübingen, 1865.
(3) Chrzosczewsky : Virchow's Archiv, XXXV, p. 174.
(4) Colasanti : *Ricerche sperimentale sulla formazione dell'acido urico*. Roma, 1881.
(5) v. Schroeder : Archiv für Physiologie, 1880. Suppl. Bd., p. 103.
(6) Pawlinoff : Virchow's Archiv, LXII, p. 57.
(7) Ebstein : *Die Natur und Behandlung der Gicht*. Wiesbaden, 1882.
(8) v. Kóssa : Arch. Internat. de Pharmacodynamie et de Therapie, vol. V, 1899, p. 97.
(9) v. Kossa : Archiv für die gesamte Physiologie, 1899, f. 5, 6 u. 7, p. 310.
(10) Likhatscheff : Ziegler's Beiträge zur pathol. Anatomie, XX.
(11) Schreiber und Zaudy : Archiv f. die ges. Phys., 1900, 89, 1 u. 2, p. 53.
(12) Kionka : Archiv für exper. Pathol. u. Ther., XLIV, p. 186.
(13) Paul und His, jun., Zeitschrift für physiol. Chemie, 31, p. 1 u. 65.
(14) Freudweiler : *Experim. Untersuch. über d. Entstehung der Gichtknoten*. Habil.-Schr.). Naumburg a/s, 1900.
(15) Baumgarten : Annalen der Chemie u. Pharmacie, 1861, CXVII, p. 106.
(16) Ziegler : Allgem. Pathologie, 9. Aufl., Iena, 1898.
(17) Behrens, Kossel und Schiefferdecker : *Das Mikroskop und die Methoden der mikrosk. Untersuchung*. Braunschweig, 1889.
(18) Neubauer und Vogel : *Anleitung zur qualitativen und quantitat. Analyse des Harns*. Analytischer Teil v. Huppert, Wiesbaden, 1898.
(19) Colasanti : *Experim. Unters. über d. Bildung d. Harnsäure*. Ref. Maly. Jahresber. d. Tierchemie, 11, p. 215, 1882.
(20) Benedicenti : Archiv f. Anat. u. Phys., 1897, p. 219.
(21) Puppe : Vierteljahrschr. f. gerichtl. Med. u. öffentl. Sanitätswesen, April 1899, 3. F. XVII, 2, p. 263.
(22) Heile : Virchow's Archiv, CLX, April 1900, 1, 2, p. 169.

(23) KOBERT : *Ueber das mikrokrystallograph. Verhalten des Wirbeltierblutes*, 2. Abdr. aus d. Zeitschr. f. angew. Mikroskopie, V, 6—10, Leipzig, 1900, p. 50.

(24) ZALESKY : Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1886, X, p. 483-84.

(25) QUINCKE : Deutsches Arch. f. klin. Mediz., XXV, 1880, p. 580 und XXVII, p. 193.

(26) KUNKEL : Zeitschr. f. physiol. Chemie, V, 1881, p. 40.

(27) ZALESKY : Zeitschr. f. physiol. Chemie, XIV, 1889, p. 274.

(28) SAMOJLOFF : *Beiträge zur Kenntnis des Verhaltens des Eisens im tierischen Organismus* (Arbeiten aus dem Pharmakol. Inst. z. Dorpat). Stuttgart, 1893, Bd. IX, p. 9.

(29) STENDER : *Mikrosk. Unters. über die Verteilung des in grosen Dosen eingespritzten Eisens im Organism.* (Arb. aus d. pharm. Inst. zu Dorpat). VII, Stuttgart, 1891.

(30) WESSELING : Pharmakol. Beiträge zur Entzündungsfrage. Inaug. Diss., Breslau, 1898.

(31) HAMMARSTEN : Lehrbuch d. physiol. Chemie, 4. Aufl., Wiesbaden, 1899.

(32) WEINLAND : Monatshefte f. Chemie, VII, p. 617. Ref. Maly's Jahresber., XVI, p. 58.

(33) MENDELSON : The american Journal of the medical sciences, nº 190, vol. XIV, 2, 1888.

(34) MINKOWSKI und NAUNYN : Arch. f. exper. Path. u. Ther., 1886, XXI, p. 23.

(35) ZALESKY : Arch. f. exper. Path. u. Ther., 1887, XXIII, p. 332.

(36) QUINCKE : Arch. f. klin. Med., XX, p. 1.

(37) PETERS : Arch. f. klin. Med., XXXII. p. 182.

(38) GLAEVECKE : *Ueber die Ausscheidung u. Verteil. d. Eisens im tier. Organism. nach Einspritzung v. Eisensalzen.* Inaug. Diss., Kiel, 1833, p. 21 u. 26.

(39) BUSS : *Ein Fall von Diabetes mellitus, u. s. w.* Inaug. Diss., Göttingen, 1894.

(40) KIONKA : Arch. f. exper. Pathol. u. Therapie, 1900, XLIV, p. 207.

(41) KOSSA : Ziegler's Beiträge zur pathol. Anat. u. zur allgem. Pathol. XXIX, 1901, p. 168.

(42) RICHTER : Deutsche medizinische Wochenschrift, 1900, nº 29; Sitzungsber. d. Ver. f. innere Medizin, Berlin, 18 Juni 1900.

(43) KIONKA : Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Therapie, vol. VII, p. 55, 1900.

(44) HOFFMANN : *Beiträge zur Kenntnis der Kronenquelle zu Salzbrun in Schlesien.* (Arb. d. Inst. f. Pharm. z. Rostock.) Breslau, 1901.

(45) Wiener : Verh. d. 19. Congr. f. innere Med., Berlin, 1901. Ref. Münchener med. Wochenschr., 48. Jahrg., n° 20, p. 813.

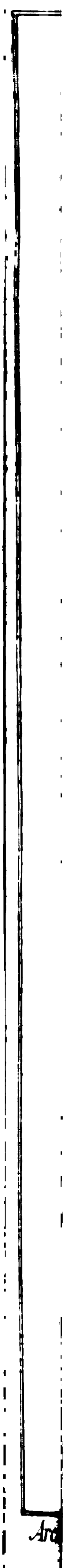
(46) Le Gendre : Ber. über den XIII. internat. med. Congr. zu Paris, 1900, 5. Sitz. d. Sekt. f. innere Med.

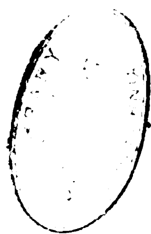
(47) Duckworth : Ebenda.

(48) Strümpell : Münchener med. Wochenschr., Jahrg. 47, 1900, n° 38.

(49) Jolles und Winkler : Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., 1900, XLIV, 5 u. 6.

(50) Rosin : Therapeut. Monatshefte, 15. Jahrg., 4 April 1901.





FROM THE PHARMACOLOGICAL LABORATORY OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN.

On the action of Caffeine on the mammalian heart

BY

ARTHUR R. CUSHNY AND BERT. K. VAN NATEN.

In the course of a study of the literature on the pharmacological action of caffeine, we were struck by the fact that, although its effects on the heart are generally recognized, comparatively few writers on the subject have studied these by direct observation of the organ in mammals. This is certainly essential to an adequate description of the effects on the circulation, and in view of the fact, that caffeine is often recommended in the treatment of inefficient heart action, further examination of the changes induced by it in the mammalian heart seemed desirable.

Up to 1868 several writers (1) state that caffeine accelerates the pulse and sometimes renders it irregular, but no serious attempt had been made to determine its action on the heart. In 1868 LEVEN (2) found the heart first accelerated and then slowed by large doses of caffeine and inferred from the fact that the acceleration occurs after division of the vagus and the sympathetic in the neck, that the drug acts directly on the heart. In the following year, JOHANNSEN (l. c.) found the mammalian heart first accelerated and then slowed by large doses; the larger the quantity injected, the earlier does the slowing make itself manifest. The acceleration is not prevented by the previous injection of atropine and the section of the sympathetic cord in the neck and thus appears to be induced by direct action

(1) See JOHANNSEN : Inaug, Dissertation, Dorpat, 1869.

(2) Arch. de Physiologie, I, 1868, p. 179.

on the heart. He infers from the fact, that the frog's heart under caffeine shows the same disintegration of the fibres as the skeletal muscles, that the heart muscle is acted on directly. AUBERT (1) found marked acceleration follow the intravenous injection of caffeine, and noted that, in the rabbit, this was sometimes accompanied by a very imperfect contraction of the dilated heart, there seeming to be too short an interval between the successive beats to allow a full contraction. The actual efficiency (Nutzeffect) of the heart is reduced by caffeine in spite of the increased rate. He attributed the acceleration to stimulation of the accelerating apparatus, while the lessened strength of the contraction was accounted for by some action on the connection between the motor ganglia and the muscle. WAGNER (2) found that small doses of caffeine injected hypodermically into rabbits had little effect on the rate of the heart, rather lessening than increasing the pulse; larger quantities accelerated the pulse and still larger induced marked arhythmia. The acceleration appeared due to action on the excitomotor apparatus in the heart, the slowing, when present, to stimulation of the vagus centre in the medulla. PHILIPPS and BRADFORD (3) describe an acceleration of the heart as occurring after the injection of caffeine, but soon giving place to a somewhat slower stronger heart-beat. They express some doubt as to whether this acceleration occurs after section of the vagus.

HEDBOM (4) examined the action of caffeine on the excised mammalian heart by passing blood containing it through the coronary arteries, and found the pulse accelerated and the amplitude of the contractions increased considerably. These changes seemed to stand in some relation to the augmented circulation through the coronary vessels which he described.

BOCK (5) isolated the mammalian heart from the systemic circulation while preserving its ordinary relation to the pulmonary circulation, and found the pulse accelerated through stimulation of the accelerating ganglia of the heart, while the pulse-volume was reduced through a change in the cardiac muscle, whose elasticity was lessened. The pulse was often somewhat slowed by small doses in rabbits, owing to stimulation of the inhibitory centre in the medulla oblongata.

In these investigations all, except HEDBOM, estimated the effect of

---

(1) Arch. f. d. ges. Physiologie, V, p. 589, 1872.

(2) Inaug. Dissertation, Berlin, 1885.

(3) Journ. of Physiology, VIII, p. 119, 1887.

(4) Skand. Arch. f. physiol., IX, p. 1, 1899.

(5) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., XLIII, p. 367.

caffeine on the heart by the changes in the blood-pressure record, which can indicate only changes in the rhythm of the ventricle and gives no information as to alterations in the degree of relaxation or of the strength of the contractions. It is true that Bock deduces an alteration in the pulse volume from his results, but this is not equivalent to a direct observation, and in fact, stands opposed to the records of Hedbom. Hedbom recorded only the ventricular contractions, and his method is open to the objection that the heart remained empty throughout the experiment. However valuable the method may prove in deciding obscure points in the physiology of the heart, it does not seem to us that Hedbom's results encourage its use in pharmacological research, for, in a considerable number of points, his observations are directly opposed to those of many competent observers using methods in which the heart is not placed in such abnormal conditions.

Our first experiments, which were a continuation of those formerly pubished by one of us (C.)(1), were performed on dogs anaesthetised by the hypodermic injection of morphine and the subsequent administration *per os* of about 300 c.c. of a watery solution of chloretone (acetone-chloroform). The movements of the right auricle and ventricle were recorded by a modification(2) of the Roy Adami myocardiograph. Caffeine was used in warm 2 per cent solution and was injected into the vena saphena. As a general rule, no changes were observed in the rhythm of the heart or in the excursions of the levers until 2,5 c.c. of the solution (0,05 gr. caffeine) had been injected, and in some cases 0,1 gr. caffeine was necessary to elicit any distinct alteration. These minimal doses induced an acceleration in the rhythm without any alteration in the extent of the excursions either in the auricle or ventricle (Fig. I). The amount of acceleration varied in different experiments, the contractions increasing in one case from 48 to 66 per minute (37 1/2 per cent), in another only from 174—180 (3 1/2 per cent). In any case the acceleration was of comparatively short duration, the heart returning to its normal rhythm in from 10 to 15 minutes and afterwards responding to a second injection in the same way as to the first.

The minimum amount of caffeine, required to induce any change in the heart in these experiments, is very much larger than that found requisite by Bock, who obtained acceleration in many cases from 0,5 mgr. in rabbits. The difference is not entirely due to the different animals used,

(1) Brit. Med. Journ., 1898, I, p. 1069.

(2) Journ. of Physiology, XXI, 1897, p. 213.

for we found that rabbits also fail to react to such minute quantities, when their circulation is intact. It seems likely that caffeine is rapidly excreted or changed in the tissues normally, but that this was prevented in BOCK's method through the ligature of the aorta. This rapid elimination of caffeine from the blood would explain the short duration of the acceleration in our experiments.

In two experiments the acceleration induced by the minimum dose was accompanied by a slight increase in the excursion of the auricular lever towards systole, but in all other cases, although this was looked for, it failed to appear, so that we are inclined to regard this strengthening of the auricular contraction as exceptional and as due to some unusual condition of the venous circulation.

When somewhat larger quantities were injected, or when a second injection was made before the heart had recovered from the first, the acceleration became more marked, and was accompanied by a considerable decrease in the extent of the auricular contraction, while the excursion of the lever towards diastole remained unchanged and the ventricle was unaffected except in rate (Fig. I, *c*). In some hearts, the smallest dose which caused any acceleration induced this diminution in the auricular systole, but in most cases pure acceleration could be obtained. In a few minutes, the auricle returned to its normal strength as the acceleration passed off.

The injection of larger quantities was followed by the same results, the acceleration being greater, however, and a new feature made its appearance in the less degree of dilatation attained by the ventricle in diastole. As the doses were still increased, the ventricular systole became less perfect and the auricle dilated less completely, so that the excursions of both levers were shortened in each direction. The exact sequence of these changes varied in different hearts, the ventricular systole sometimes being shortened before the dilatation became markedly imperfect, but in most experiments the changes followed as described above (Fig. I, *d*, *e*).

When doses of one gramme or more were injected, the acceleration became extreme, both levers made very short excursions from a position midway between the normal systole and diastole, and marked irregularity set in in each tracing (Fig. II). Finally, the contractions of the auricle became so rapid and small as to give no distinct record and, on direct inspection, it was found to be in fibrillary contraction. The ventricle continued beating rapidly and irregularly, and if no more caffeine was injected, the auricle often recovered, and after a sufficient interval the

whole heart returned to a normal though accelerated rhythm. If, however, more caffeine was injected, the ventricle passed intro fibrillary contraction from which there was no recovery. In some experiments, in which the heart had been exposed for several hours, no delirium was elicited, even by very large doses, probably because the temperature was too low. In these cases the beats became slower and more irregular and the heart ceased midway between systole and diastole.

The most chacteristic feature of caffeine action is thus the acceleration of the rhythm. This is independent of the inhibitory apparatus of the heart, for it occurs after section of the vagi and the injection of atropine, as several observers have noted and as we have satisfied ourselves. An equal acceleration follows the injection of caffeine in animals in which the stellate and first dorsal ganglia have been excised, as was done in several of our experiments, and indeed in the excised heart (HEDBOM), or in the heart isolated from the central nervous system (BOCK). The acceleration must therefore be ascribed to action on the heart muscle or to stimulation of the terminations of the accelerator nerves. BOCK attributes it to the accelerating ganglia of the heart, but as the accelerator nerves continue to act after nicotine(1), there seems every reason to believe that the accelerator fibres do not communicate with ganglia within the heart. In order to determine whether the accelerator terminations were involved in the action, we compared the changes observed on stimulation of the anterior ramus of the *annulus Vieussenii* with those following the injection of caffeine. Our results from stimulation were identical with those of Roy and Adami and differed from those from caffeine in several particulars. The acceleration is common to both, but while after caffeine the contractions of the auricle and ventricle tend to be weaker rather than stronger, accelerator stimulation invariably led to an increase in the strength of the contractions. This seems to indicate that the accelerator terminations are not the point on which caffeine acts. It is, however, possible that it stimulates only the terminations which are situated in that part of the heart which controls the rhythm, while leaving the terminations in the more contractile parts of the heart unaffected, or in the terminology adopted by some physiologists, caffeine may act on the accelerator terminations but not on those of the augmentor fibres. It seemed possible that some light might be thrown on this question by accurate measurements of the different phases of the cardiac cycle under caffeine and under accelerator stimulation, and in addition it appeared

(1) SCHMIEDEBERG : Arb. a. d. physiolog. Anstalt zu Leipzig, 1872, p. 43.

desirable to find whether the conductivity of the heart muscle is altered by caffeine, since an increase in the conductivity may prove to be the measure required to remove certain forms of irregularity of the pulse. We therefore compared the tracings obtained from very fast drums from normal dogs with those obtained during the acceleration elicited by stimulation of the accelerator nerve and by caffeine. In addition we obtained some tracings in which the heart was accelerated by electrical stimulation of the junction of the great veins with the auricles. For this purpose we used a sinusoidal apparatus, in order to obtain a more constant rate of interruption and greater uniformity in the strength of the shocks than is possible by the DUBOIS-REYMOND coil. The time was registered by a tuning fork making 50 complete oscillations per second. We found some difficulty in measuring these tracings very accurately, owing to the rounded nature of the curves which often rendered it impossible to determine at what point the systole was complete and when the diastolic movement began. But from our measurements of numerous tracings it would appear that all the phases of the cardiac cycle are accelerated by accelerans stimulation, except two — the auricular systole and the ventricular diastole. The auricle dilates more rapidly and remains a shorter time in dilatation, the ventricle contracts more rapidly and remains contracted for a shorter time, but its actual dilatation seems unchanged in rate, although the pause in the fully dilated condition is shorter. The auricular systole seemed in some cases to occupy a longer time during accelerans stimulation than in the normal state. The interval between the systole of the auricle and that of the ventricle was much shortened, indicating an increased conduction in the heart.

When a cardiac cycle under caffeine was compared with a normal one, the chief change was seen in the pause in the dilated condition, which is much abbreviated, both in the auricle and ventricle. No other alteration was found to be constant, though the actual movements of systole and diastole in the auricle appeared to occupy less time in some instances. The interval between the beginning of the contraction of the auricle and that of the ventricle (the conduction) was found unchanged by caffeine.

During stimulation of the base of the auricle by induction shocks, the acceleration of the heart was in the main due to shortening of the diastolic pause in the auricle and ventricle. The systole in the auricle sometimes appeared shorter and the pause in full contraction of the ventricle was remarkably shortened in one instance. The conduction was unchanged or rendered less perfect.

These results seem to point in the same direction as those obtained

with slower drums : if the acceleration is due to stimulation of the nerve terminations, this action is confined to the terminations in the rhythm-giving part of the heart. On the other hand, the results of electrical stimulation of this area gives very similar results to those observed under caffeine and it is at least as reasonable to suppose that the drug acts on the peculiarly irritable muscle of this region. This is the more probable, because caffeine acts on voluntary muscle cells and on cardiac muscle (JOHANNSEN), while it has not been shown to act on nerve terminations in any organ of the body. The acceleration can, therefore, be attributed to action on the muscular apparatus which gives the rhythm to the lower parts of the heart with greater probability than to the terminations of the accelerator nerves, although the latter explanation cannot be entirely excluded, until some method is devised whereby the accelerator terminations can be thrown out of action in the same way as the inhibitory terminations are paralysed by atropine.

The second feature in caffeine action consists in a lessened strength of contraction in the auricle and later of the ventricle, accompanied or followed by a lessened degree of dilatation in diastole. BOCK supposed that the contractions were altered by a direct action on the muscle quite independent of the acceleration and this would seem the simplest explanation. It is not impossible, however, that the changes in the excursions of the levers may be more closely connected with the acceleration than appears at first sight, for we have found in some experiments, in which acceleration was induced by electrical stimulation of the junction of the auricle and great veins, that it was accompanied by weakness of the auricle and by the other features elicited by medium doses of caffeine. It therefore seems possible that the acceleration, when moderate, is accompanied by no change in the excursions of the levers, but that as it increases, the time allowed for the anabolic changes in the heart muscle is too short to permit of a full systole; the diastolic pause is at first shorter and eventually disappears and the diastole is thus interrupted in its course by a renewed contraction, so that eventually the dilatation of the heart becomes imperfect and both auricle and ventricle make short excursions on each side of a line, drawn through the middle of a normal systole. The earlier changes in the heart under caffeine may thus be explained by the drug stimulating the rhythmic function only, though it is not impossible that the auricular and ventricular muscle is also affected soon after the part of the heart muscle which determines the rhythm and that this direct action is the true explanation of their weakened systole and diastole. In view of the fact that

in the next stage of the effects of caffeine the ventricle is undoubtedly acted on directly, this may perhaps be considered the more probable theory.

After very large doses of caffeine 0,7—1,0 gr., marked irregularity of the heart appeared, and on comparing the tracings of the auricle and ventricle, it was found that they were beating in different rhythms. The auricle always beat more rapidly than the ventricle, though the latter was even more accelerated than in the earlier stages of caffeine action. For example, the auricle was found in one experiment to be beating 347 times per minute, the ventricle 262 times, while normally they beat 120 per minute, and before the arhythmia, they had a rate of 225 per minute.

During this irregular stage, the contractions of the ventricle varied to a marked degree in the extent of systole and also of diastole. A contraction which caused an excursion of the levers of only 10—15 mm. was often followed by one of 30—40 mm. excursion, the latter indicating both a more perfect shortening of the fibres in systole and a more complete relaxation in diastole. Similar variations in the excursions were observed in the lever attached to the auricle (Fig. II, *a*). Some variation in the interval between two systoles of the ventricle could be made out by careful measurement, and the same held true for the auricle, but this variation in rhythm was much less striking than the irregularity in the form of the tracing. The interval between two systoles of the auricle was of course shorter than that in the ventricle, owing to the greater acceleration of the auricle. Very often in examining the ventricular tracing a certain recurrent irregularity could be made out. Thus every fourth beat might present the same marked strength in systole, while the intervening ones were distinguished by the shortness of the movement in contraction. In such cases, every fifth beat of auricle proved identical in form and the irregularity proved to be of the form described by one of us (C(1)) and due to the arhythmia of the auricle and ventricle. This form of irregularity is also seen in poisoning with digitalis and occasionally on rhythmical stimulation of the ventricle, but in these cases the successive waves of the tracing are more regular than under caffeine, probably because, under the latter, there is a certain tendency to irregularity in the rhythm of each division of the heart in addition to the want of consonance between the two divisions.

When the injection was pushed farther, the irregularity in the movements became still more marked. In the auricle a few beats with

(1) Journ. of Physiology, XXV, 1899, p. 49.

moderate excursions towards systole were often followed by an interval in which only faint oscillations from the position of extreme diastole occurred, these again giving place to systoles of moderate strength, and this alternation often continuing for some time (Fig. II, *b*). During the stronger auricular movements the ventricle beat feebly, while in the intervals of feeble contractions of the auricle, the ventricular systoles became stronger; this seems to be explained in the same way as the earlier phase of irregularity, through the interference of the auricular and ventricular systoles which prevents the completion of either. These forms of irregularity lasted only a few minutes, the heart then returning to the accelerated regular rhythm and after some time becoming completely normal or only slightly accelerated. If, however, more caffeine was injected during the irregular stage, or if the dose at first had been enormous, still more marked irregularity set in and the auricle finally passed into fibrillary contractions, the ventricle continuing to beat, and (as a general rule) with less variation in the form of its contractions than in the preceding stage (Fig. II, *c*). A pause of a few minutes was sufficient to restore the auricle to contractions at first irregular, then becoming regular and rapidly lessening in rate. Finally, if the injections were continued, the auricle passed into fibrillary contractions and the ventricle followed suit, and from this there was no recovery, even when artificial respiration was kept up for 15—20 minutes. The quivering movement of the ventricle gradually ceased and both auricle and ventricle remained without movement in the completely distended position.

The arhythmia of the auricle and ventricle, which is one of the most characteristic features of the irregular stage, might be due, either to the ventricle developing such a degree of irritability under caffeine as to begin to contract, without waiting for impulses from the more irritable parts of the heart as it does normally; or, it might be explained by certain of these descending impulses failing to reach the ventricle or at any rate failing to excite it to contraction. The first seems the true explanation, because the rhythm of the ventricle is fairly regular, at any rate in the beginning of the arhythmia, while if occasional impulses simply failed to reach the ventricle, the tracing would show intervals of quiescence of considerable length(1).

The ventricle thus developes a rhythm of its own (idioventricular rhythm) and as this is slower than that of the auricle, there must be some obstruction to the passage of impulses from the auricle to the ventricle,

(1) Journ. of Phys., XXI, 1897, p. 213.

otherwise the ventricle would assume the rhythm of the auricle. The rhythm of the ventricle is very much more rapid than that ordinarily observed, when there is an interruption in the passage of impulses between the auricle and ventricle; this indicates that in addition to the obstruction of the passage (block) there is an actual stimulation of the ventricle. This stimulation at first causing a rapid idioventricular rhythm, finally leads to independent contractions of the individual muscle bundles, or fibrillary contractions in the ventricle.

The effects of caffeine on the dog's heart thus appear to consist in 1) acceleration of the rhythm without further change, 2) shortening of the movements commencing in the auricle and spreading to the ventricle, 3) auriculo-ventricular arhythmia terminating in fibrillary contractions of the auricle and finally of the ventricle. The first phenomenon, — the acceleration, — appears to be due to stimulation of the most irritable part of the heart, the so-called excitomotor apparatus, and as no further change in the movements is seen, the action of the drug at this stage appears to be confined to this area. The second change, the lessened excursion of the levers, may be due in part to the acceleration, and may thus be considered a secondary effect of the increased irritability of the excito-motor area; but it may also be ascribed to the action of the drug on the muscle of the auricle and ventricle and may thus indicate that the influence of the drug has extended to these less susceptible parts of the heart. The third stage of arhythmia is due to the ventricular irritability having been so greatly increased as to give rise to an idioventricular rhythm. The interference of the two rhythms then explains the major part of the variation in the strength of systole and the extent of diastole. The idioventricular rhythm indicates that the characteristic stimulant action on the cardiac muscle has extended to the ventricle. When this has attained a sufficient height it leads to fibrillary contractions in the ventricle; the previous appearance of these in the auricle appears to indicate that the stimulant influence spreads to this before it reaches the ventricle. The action of caffeine on the mammalian heart thus appears to consist in a descending stimulation which begins in the excito-motor area at the junction of the auricle and great veins, and extends into the auricles and finally to the ventricles. The effects can be explained by direct action on the muscle without the necessity of appealing to any nervous apparatus, and our experiments do not support the idea that the nervous apparatus of the heart is involved in the effects.

If the action of caffeine on the dog's heart be compared with that of

the digitalis series(1), it is found that as far as the direct action on the heart is concerned, they resemble each other in both affecting only the heart muscle. But in the case of digitalis, the earliest changes seen are in the strength of systole and extent of diastole in the ventricle and auricle. These parts of the heart are thus affected sooner than the excitomotor area, and the contrast between the action of the two drugs may be explained by stating that, while both act on the heart muscle, the stimulation exercised by caffeine begins in the excitomotor area and descends to the auricle and then to the ventricle, while the action of digitalis begins in the auricle and ventricle and its effects on the rhythm (as far as these are caused by direct action on the heart) are of secondary importance. Further, the primary changes induced by the digitalis series are not so much evidenced by increased irritability of the parts affected as by increased contractility and lessened dilation (increased tone), while there is no evidence of such a change in the late stages of caffeine poisoning, in which the ventricle is directly affected.

An attempt was made to determine whether the efficiency of the heart, that is to say the output of the heart per minute, is increased by caffeine in its earliest stage. For this purpose the Roy-Adami cardiometer was applied to the cat's heart. The tracings indicated that the amount of blood, expelled by each contraction, was somewhat increased and the number of contractions was of course greatly augmented. The increase in the pulse volume was generally so small, however, that it seemed probable that it was rather due to the inertia of the lever, owing to the accelerated movement than to any real augmentation of the output. We are, therefore, inclined to regard the efficiency of the heart as varying with the rate in the first stages of caffeine action. This must of course be modified considerably by the vascular action of the drug in normal animals. In the irregular stage the pulse-volume and the output per minute varied extremely.

Ann Arbor, 15 July 1901.

(1) Journal of Experim. Medicine, II, 1897, p. 233.

Explanation of the Figures.

In all the tracings, the upper is that of the right ventricle, the lower that of the right auricle. During systole the levers descend, during diastole they ascend.

FIG. I. — Time-marker, one second.

a) normal tracing,

b) tracing after the injection of 50 mgr. of caffeine; acceleration without further change,

c) the heart had recovered partially from the first injection; just before *c* was taken 75 mgr. was injected,

d) during the recovery after *c*, 125 mgr. was injected,

e) after 0,7 gr. had been injected altogether, irregularity beginning in the auricle.

FIG. II. — Time-marker 1/5 sec. Tracings during the irregular stage of caffeine action.

a) immediately after irregularity commenced,

b) after an additional injection,

c) as the auricle passes into fibrillary contraction.

Laboratoire municipal de thérapeutique de l'hôpital de la Pitié de Paris.

La prophylaxie de la tuberculose pulmonaire par la connaissance de son terrain

PAR

Albert ROBIN et Maurice BINET.

I.

Dans les études faites depuis vingt ans sur la tuberculose on a singulièrement laissé de côté la question du terrain de la maladie. La connaissance de la contagion et de son agent a orienté la prophylaxie et la thérapeutique de la phtisie dans la poursuite du microbe, et l'on a relégué sur un plan lointain la recherche des conditions prédisposantes qui rendent efficace l'intervention de ce microbe. Car, même parmi les individus placés dans les millieux les plus favorables à la contagion, le plus grand nombre semble échapper à celle-ci, et quelle est la personne qui, dans les grands centres de population, n'a pas été plus ou moins exposée à faire pénétrer dans ses poumons de l'air chargé de poussières bacillifères?

Pour qu'on devienne tuberculeux, il faut donc quelque chose de plus que l'agent de la contagion auquel nous sommes tous plus ou moins exposés. Il faut un terrain favorable à la vie et à la multiplication du bacille de la tuberculose. Si l'on parvient à déterminer ce terrain, on réalisera un immense progrès dans la prophylaxie et dans le traitement de la maladie, parce que l'on pourra entourer de plus de précautions contre la contagion ceux qui présenteront les stigmates de ce terrain, et parce que l'on conçoit l'espérance de trouver des agents capables de rendre le terrain réfractaire.

II.

Or, nous avons démontré précédemment que par l'analyse des échanges respiratoires on pouvait non seulement faire le diagnostic du

terrain prétuberculeux, mais encore saisir le pourquoi de ce terrain, c'est à dire l'une des raisons de l'aptitude à la tuberculose.

1° Sur 92 % des phtisiques, la capacité respiratoire est diminuée, soit absolument, soit par rapport au centimètre de taille du sujet; la ventilation pulmonaire croît de plus de 80 %; l'acide carbonique de 64 %; l'oxygène total consommé de 70 %; l'oxygène absorbé par les tissus de 94 %(1). Qu'il s'agisse de phtisie aigue ou chronique, que le malade soit examiné au début ou à la fin de la maladie, *les échanges respiratoires sont toujours augmentés* dans de variables proportions.

2° Nous avons recherché si cette exagération des échanges respiratoires n'existait pas aussi dans d'autres maladies. Les recherches poursuivies dans quarante états morbides ont montré que, si un certain nombre de ceux-ci présentaient aussi des échanges respiratoires exagérés en bloc, cependant dans chacun d'eux le chimisme respiratoire différait par quelque trait de celui de la phtisie, ce qui permet de l'utiliser pour le diagnostic et même pour le *diagnostic précoce* de la phtisie, puisque ses caractères sont significatifs dès le début de celle-ci.

3° Pour expliquer cet accroissement des échanges gazeux trois hypothèses se présentaient. On pouvait songer, en effet, à une *réaction de défense organique* à l'encontre du bacille, à une *conséquence de l'attaque bacillaire,* ou enfin à une manifestation du *terrain de la tuberculose*. Aujourd'hui, cette dernière hypothèse est passée à l'état de fait puisque nous avons découvert que nombre des descendants de tuberculeux avaient déjà des échanges respiratoires exagérés, que dans les états antagonistes de la phtisie, comme l'arthritisme, ils étaient au contraire diminués, ainsi d'ailleurs que dans la scrofule, ce terrain où ne germent que des tuberculoses locales.

L'exagération des échanges respiratoires est donc l'une des conditions du terrain de la phtisie. *La prédisposition, qu'elle soit héréditaire ou acquise, reconnait, au moins comme l'une de ses causes, l'aptitude de l'organisme à consommer trop d'oxygène, à en fixer trop dans les tissus, et à produire trop d'acide carbonique, en un mot à se consumer exagérément,* ce qui correspond bien à l'idée hippocratique persistant encore dans la tradition populaire.

III.

Pour démontrer définitivement cette proposition, examinons d'abord ce qui se passe chez les *descendants de phtisiques*. Nous avons analysé les

(1) Ces mesures sont données par kilogr. de poids et par minute pour l'homme. Chez la femme, les augmentations sont encore plus considérables.

échanges respiratoires de 28 descendants de tuberculeux paraissant jouir d'une bonne santé, indemnes de tout soupçon de tuberculose actuelle. Sept d'entr'eux étaient âgés de 8 à 14 ans; les 21 autres avaient de 17 à 50 ans.

Dans les 7 premiers cas, les échanges ne sont pas exagérés. Nous nous demandons s'il n'y aurait pas là quelque relation avec ce fait que l'aptitude à la phtisie se manifeste moins avant la quinzième année, d'après la statistique de Leudet et de Hanot, et aussi d'après l'observation courante de la majorité des médecins. Remarquons aussi que, chez les sujets au-dessous de 15 ans, les échanges respiratoires sont très actifs; ce n'est guère qu'à partir de la 16e année qu'ils prennent leur type définitif. Enfin, les résultats de l'analyse chez les sujets de cet âge sont souvent sujets à caution, à cause de la difficulté que l'on éprouve à obtenir chez eux une respiration régulière pendant l'expérience. Nous réservons ces sept observations jusqu'à ce que nous ayons eu l'occasion de pratiquer un plus grand nombre d'analyses.

Dans les 21 cas du second groupe (héréditaires du 16 à 50 ans), les échanges respiratoires sont augmentés 13 fois, normaux 7 fois, abaissés 1 fois, ce qui correspond au pourcentage suivant :

Les échanges respiratoires chez 21 héréditaires bien portants :

Echanges	exagérés	13 fois	soit	61.9 °/o.
»	normaux	7 »	»	33.3 °/o.
»	abaissés	1 »	»	4.8 °/o.

Il résulte de ce tableau que, sur 10 descendants de phtisiques, 6 représentent un terrain favorable à la contagion.

IV.

Nous ne saurions dire dans combien de cas *cette prédisposition se réalise,* parce que nos sujets n'ont pas encore été suivis pendant assez longtemps. Mais sur nos 13 cas à chimisme exagéré, deux sont devenus phtisiques. Le premier, examiné en avril 1896 et absolument sain à cette époque, a été emporté en juillet 1898 par une phtisie à marche rapide, ayant débuté en janvier de la même année. Un frère âgé de 20 ans, examiné à la même époque, a des échanges normaux. Nous l'avons revu, en juin 1901, bien portant et vigoureux. Le second présente, en octobre 1897, des échanges exagérés; en décembre 1899, l'exagération s'accentue et, en novembre 1900, on constate les premiers signes de la phtisie. Une sœur plus jeune, examinée le même jour, a des échanges physiologiques. Elle est aujourd'hui mariée et très bien portante.

Quand bien même l'on contesterait la valeur du chimisme respiratoire comme manifestation du terrain tuberculeux, on ne peut nier, tout au moins, son *importance révélatrice de la prétuberculose pulmonaire.*

Par contre, voilà une fille robuste dont le père est phtisique, qui est la seule survivante de cinq enfants morts de tuberculose méningée; ses échanges sont normaux. Un individu de 50 ans, fils de deux phtisiques, dont les deux sœurs et le frère sont morts phtisiques, a des échanges respiratoires diminués. Or, il n'a jamais été malade et il est un type de vigueur et de santé.

V.

Dans les 21 cas du deuxième groupe, nous n'avons réuni que des sujets ayant toutes les apparences de la santé. Voici maintenant 6 cas où des *descendants de phtisiques étaient atteints de maladies déterminées.*

1° Un jeune homme de 21 ans, sans hérédité directe, mais avec une grand'mère morte de phtisie, vient d'avoir la *grippe*. Il est très amaigri, continue de tousser, a des sueurs nocturnes; on soupçonne un début de phtisie. L'analyse des échanges respiratoires donne des chiffres à peu près normaux :

Acide carbonique produit	4^{cc} 751
Oxygène consommé total	5^{cc} 938
» absorbé par les tissus	1^{cc} 187

Revu après deux années, il est en parfaite santé.

2° Une jeune fille de 19 ans a perdu sa mère de phtisie quatre ans auparavant. Elle est atteinte d'une *grippe traînante* qui se complique de foyers disséminés et successifs de *bronchopneumonie* avec mauvais état général et grandes oscillations thermiques. On pense à une tuberculose pulmonaire aiguë. L'abaissement des échanges fait écarter ce diagnostic :

Acide carbonique	3^{cc} 800
Oxygène consommé total	4^{cc} 307
» absorbé par les tissus	0^{cc} 507

La malade est guérie depuis dix huit mois et se porte bien.

3° Une jeune fille chlorotique de 16 ans est fille d'un père mort de phtisie; elle a eu 3 frères morts de méningite tuberculeuse. Une autre *chlorotique* de 17 ans est fille d'une mère morte phtisique; sa sœur est morte à 20 ans de tuberculose aiguë. Toutes deux ont des échanges exagérés :

	1er cas	2e cas
Acide carbonique produit	7^{cc} 004	7^{cc} 676
Oxygène consommé total	8^{cc} 140	10^{cc} 232
» absorbé par les tissus	1^{cc} 136	2^{cc} 558

La moyenne des échanges respiratoires chez 11 chlorotiques donne les chiffres suivants :

Acide carbonique produit	6^{cc} 148
Oxygène consommé total	7^{cc} 925
» absorbé par les tissus	1^{cc} 777

Les échanges de ces deux jeunes filles sont donc exagérés par rapport à ceux de la chlorose chez les non héréditaires.

4° Une femme de 50 ans, atteinte de *cancer de l'estomac* avec phlegmon consécutif de l'ombilic, fille d'une mère phtisique a des échanges exagérés :

Acide carbonique produit	8^{cc} 303
Oxygène consommé total	11^{cc} 525
» absorbé par les tissus	3^{cc} 230

En général, les échanges sont ralentis chez les cancéreux, ainsi qu'en témoignent les chiffres suivants, moyennes de 4 cas :

Acide carbonique produit	3^{cc} 291
Oxygène consommé total	4^{cc} 442
» absorbé par les tissus	1^{cc} 151

5° Un *saturnin* de 35 ans, d'hérédité mal établie, mais ayant perdu deux frères et une sœur de phtisie, a des échanges normaux :

Acide carbonique produit	4^{cc} 359
Oxygène consommé total	5^{cc} 605
» absorbé par les tissus	1^{cc} 246

On ne peut pas plus s'attendre à trouver des échanges élevés chez tous les héréditaires malades que chez tous les héréditaires bien portants. Mais il est évident que 3 malades sur 6 conservaient — alors que leur maladie ne comporte pas un chimisme aussi élevé — des *échanges indicateurs du terrain tuberculeux qu'ils tenaient de leur hérédité.*

En réunissant ces cas aux 21 précédents, on obtient l'ensemble ci-dessous :

Les échanges respiratoires chez 27 héréditaires sains ou malades :

Echanges exagérés	16	fois,	soit	59,25 %
» normaux	9	»	»	33,33 %
» diminués	2	»	»	7,42 %

Cette proportion concorde sensiblement avec celle qui ressort de la statistique précédente et confirme sa valeur.

VI.

Les descendants de tuberculeux ne sont pas seuls à présenter cette suractivité des échanges respiratoires qui caractérise au moins l'une des aptitudes à la phtisie. Cette aptitude du terrain peut aussi être acquise. On

sait que les alcooliques, les surmenés, les gens mal nourris fournissent un fort contingent à la tuberculose. Si l'importance de chacune de ces conditions n'est pas la même pour tous les observateurs, aucune d'elles, toutefois, n'est mise en doute par personne. Mais, ce que l'on ne connaît pas, c'est le trouble nutritif qui caractérise ces états protopathiques de la phtisie, et l'on ne sait pas, par conséquent, si ce trouble est le même pour tous les états en question.

Or, nos recherches nous ont démontré ce fait capital, que, chez *les alcooliques et les surmenés, les échanges respiratoires subissaient une suractivité comparable à celle observée chez la plupart des descendants de tuberculeux.*

1° Deux jeunes gens de 24 et 25 ans, sans tare héréditaire, jouissant d'une parfaite santé, vivant dans les meilleures conditions d'hygiène, se livrent pendant plusieurs mois à des *excès génitaux*. Leurs échanges respiratoires s'élèvent dans une forte proportion :

	1er cas (24 ans) par kilogr. minute	2e cas (25 ans)
Acide carbonique produit	7cc 057	7cc 165
Oxygène total consommé	10cc 460	8cc 424
» absorbé par les tissus	3cc 393	1cc 259

2° Le *surmenage intellectuel* agit dans le même sens. Voici un médecin de 40 ans, très occupé déjà par sa vie professionnelle, qui se livre à des travaux intellectuels très absorbants, et voit ses échanges respiratoires s'élever sensiblement. De par ce surcroît de travail, l'acide carbonique passe de 4cc,651 à 6cc,843, et l'oxygène total consommé de 6cc,511 à 8cc,490.

3° On sait que le *travail musculaire* active les échanges respiratoires. Il en est de même de *l'insomnie* et des *veilles*. Nous avons recueilli nombre d'observations qui confirment cette exagération. L'une d'entre elles concerne un ouvrier faïencier, âgé de 25 ans, surmené par le travail de nuit et ne parvenant pas à compenser suffisamment par le sommeil interrompu du jour, la fatigue et l'insomnie de la nuit. Les échanges respiratoires sont considérables :

	Par kilogr. minute
Acide carbonique produit	6cc 942
Oxygène consommé total	9cc 029
» absorbé par les tisssus	2cc 086

4° *L'alcoolisme* agit comme le surmenage. Un garçon marchand de vins de 33 ans, buveur de vin, d'apéritifs et d'absinthe, ayant les stigmates de l'alcoolisme professionnel, quoique ne se grisant jamais, pâle, amaigri, déprimé, véritable proie pour la tuberculose, présente le chimisme suivant ;

	Par kilogr. minute
Acide carbonique produit	7^{cc} 765
Oxygène consommé total	10^{cc} 358
» absorbé par les tissus	2^{cc} 593

5° Une jeune femme de 28 ans, pour noyer des chagrins, boit chaque jour, depuis près d'une année 5 à 6 verres *d'absinthe,* sans compter le reste. Elle mange mal, souffre de l'estomac et commence à se cachectiser. Ses échanges respiratoires sont énormes :

	Par kilogr. minute
Acide carbonique produit	8^{cc} 359
Oxygène consommé total	11^{cc} 063
» absorbé par les tissus	2^{cc} 704

6° *Quand l'alcoolisme et les divers modes de surmenage se combinent,* l'exagération des échanges peut atteindre des proportions tout à fait considérables. Ainsi, un homme de 43 ans, encore vigoureux, avec quelques signes de déchéance physique, travaille dans une raffinerie, exposé à une immense chaleur, se fatiguant beaucoup et s'alcoolisant de même. Ses échanges respiratoires atteignent les hauts chiffres suivants :

	Par kilogr. minute
Acide carbonique produit	9^{cc} 287
Oxygène consommé total	11^{cc} 764
» absorbé par les tissus	2^{cc} 477

Ces recherches faites sur 14 sujets alcooliques ou surmenés physiquement, intellectuellement ou génitalement, aboutissent au même résultat, et nous n'avons trouvé qu'un seul cas contradictoire chez une institutrice de 22 ans qui, quoique surmenée professionnellement, avait des échanges respiratoires à peu près normaux.

VII.

Laissons de côté toute interprétation théorique des faits précédents et ne nous attachons qu'à ces faits eux-mêmes qui sont assez nombreux pour que les hypothèses de série ou de coïncidence soient écartées.

Les échanges respiratoires sont accrus chez 92 % des phtisiques avérés. Ils sont également exagérés chez 60 % environ des descendants de phtisiques. L'alcoolisme et les différents modes de surmenage qui sont, de par l'observation universelle, des conditions prédisposantes de la phtisie, se caractérisent aussi par une augmentation de la consommation de l'oxygène et de la production de l'acide carbonique. Tels sont les faits.

L'aptitude exagérée de l'organisme à fixer de l'oxygène et à faire de

l'acide carbonique, c'est à dire à se *consumer*, constitue donc au moins l'une des caractéristiques des états protopathiques de la phtisie.

Si diverse que soit l'origine de la prédisposition, qu'il s'agisse d'hérédité, d'alcoolisme ou d'un des modes de surmenage, on retrouve cette consommation exagérée de l'oxygène et cette formation en excès de l'acide carbonique. La découverte de ces deux termes éclaire donc le mystère des états protopathiques de la phtisie que l'on désignait jusqu'ici sous le nom vague *d'états de déchéance organique*. Nous connaissons maintenant l'un des actes chimiques communs à ces états de déchéance; nous pouvons mesurer exactement son intensité et rendre à l'hérédité, par exemple, une partie de la valeur dont semblait l'avoir dépossédée la découverte du bacille de KOCH.

VIII.

Parmi les *conséquences* qui résultent des faits précédents, il en est quatre dont l'importance pratique est considérable.

1° La presque constance (92 °/₀) de l'exagération des échanges à toutes les périodes de la phtisie confirmée aidera à en réaliser le *diagnostic précoce*; et dans le cas où l'on hésite entre la phtisie et une autre affection, le chimisme respiratoire résoudra souvent la difficulté. Dans un précédent mémoire, nous en avons cité des exemples, entr'autres à propos du diagnostic entre la pleurésie simple et la pleurésie tuberculeuse. Depuis, nous avons encore recueilli plusieurs observations dont l'analyse fera l'objet d'un travail spécial.

2° On peut aussi, de par les échanges respiratoires, *diagnostiquer la prédisposition à la tuberculose*. Parmi les descendants d'une souche tuberculeuse, on reconnaîtra ceux qui sont aptes à l'infection. Depuis 7 années que nous poursuivons nos recherches, nous avons vu se réaliser deux fois notre diagnostic de la prédisposition héréditaire.

3° Le terme vague de « déchéance organique héréditaire ou acquise », dont on s'est servi jusqu'à présent pour définir le terrain de la phtisie, ne comporte aucune indication prophylactique et thérapeutique. On dit aux alcooliques de ne plus boire, aux surmenés de se reposer et aux descendants de tuberculeux de se tonifier; mais le propre des médications dites toniques est justement de stimuler les échanges organiques qui sont déjà, chez ces héréditaires, en état de suractivité. Au contraire, l'analyse des échanges respiratoires révèle une condition commune aux états de prédisposition et dont la connaissance comporte une indication thérapeutique nette qui est de restreindre le pouvoir de l'organisme à fixer trop d'oxygène et à faire

trop d'acide carbonique. Il ne s'agit donc plus que de rechercher quels sont les *médications* et les *médicaments* capables de réaliser cette indication. Nous avons étudié déjà, dans cette direction, 34 agents thérapeutiques qui, les uns apaisent les échanges gazeux, les autres les accroissent, tandis que d'autres encore n'ont pas d'action ou qu'une action irrégulière.

Nous passerons ainsi successivement en revue le plus grand nombre possible d'agents thérapeutiques, afin de faire le départ de ceux qui exercent sur les échanges respiratoires une action apaisante. Nous présenterons alors un travail d'ensemble sur la prophylaxie de la phtisie et les moyens capables de modifier son terrain. Mais, dès maintenant, nous pouvons dire que les grands médicaments traditionnels, comme les arsénicaux, les tanniques, l'huile de foie de morue, par exemple, restreignent les échanges respiratoires. Nous affirmons aussi qu'il est possible de ramener à la normale le chimisme respiratoire exagéré d'un héréditaire, d'un alcoolique ou d'un surmené par l'association de l'hygiène et des médications restrictives des échanges. Citons trois faits à titre d'exemple :

A) Voici un jeune homme de 19 ans dont la mère et le frère sont morts phtisiques; la sœur de la mère est morte aussi de phtisie ainsi que ses deux enfants. Ses échanges respiratoires sont exagérés. On le met au repos et à une alimentation d'épargne; on lui donne de l'*arséniate de soude* à minime dose continue, etc.: après un an, son chimisme respiratoire est redevenu normal.

	Avant le traitement prophylactique	Après une année de traitement
Acide carbonique produit	6cc 04	4cc 35
Oxygène consommé total	7cc 88	5cc 30
» absorbé par les tissus	1cc 84	0cc 95

Six ans se sont passés et toute crainte de tuberculose est écartée.

B) Un séminariste de 20 ans, dont la mère, le frère et la sœur sont morts phtisiques, mais ayant encore deux frères et deux sœurs indemnes, maigrit, pâlit et s'affaiblit. Les échanges sont exagérés. On le met au repos absolu et à la *médication cacodylique* renforcée *d'huile de foie de morue*. En un mois les échanges s'abaissent, tendent à se rapprocher de la normale, pendant que l'état général redevient satisfaisant :

	Avant le traitement	Après un mois de traitement
Acide carbonique produit	6cc 136	4cc 647
Oxygène consommé total	8cc 452	7cc 077
» absorbé par les tissus	2cc 316	2cc 120

C) Une jeune fille de 17 ans, avec une mère phtisique et un père mort

de granulie, perd l'appétit, maigrit, pâlit et s'affaiblit. On la met au *repos absolu* aidé d'une *médication apéritive* et d'une *alimentation d'épargne*. Son chimisme s'abaisse presque aussitôt :

	Avant le traitement	Après le traitement
Acide carbonique produit	5cc 760	5cc 481
Oxygène consommé total	7cc 927	7cc 067
» absorbé par les tissus	2cc 160	1cc 586

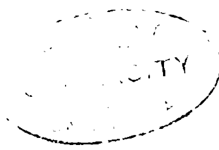
Le repos et l'alimentation, — nous ne disons pas la suralimentation, — ont donc suffi à modérer les échanges respiratoires. En même temps disparaissaient les symptomes inquiétants. Quatre années se sont écoulées : la jeune fille est mariée, mère de famille et en parfaite santé.

Il y a donc des médications capables de modifier le terrain et l'examen des échanges respiratoires permet de déterminer ces médications, comme aussi de savoir si elles ont agi dans tel cas particulier, et par conséquent, si tel individu prédisposé a perdu, au moins temporairement, sa prédisposition.

4° Ce *mode de prophylaxie* de la tuberculose qui s'adresse à son terrain mérite d'attirer l'attention au même titre que celui qui consiste à poursuivre le bacille, et la lutte contre la tuberculose ne saurait être efficace sans le concours de ces deux éléments.

Aux mesures d'hygiène publique et privée actuellement édictées contre le bacille de la tuberculose, il faut donc ajouter *l'examen individuel du chimisme respiratoire* de tous les individus soupçonnés de prédisposition. Et de même qu'on vaccine contre la variole et que l'on recherche des vaccins contre d'autres infections, de même il faudra *traiter préventivement,* chez les individus prédisposés, l'aptitude à contracter la tuberculose, et cela non par des vaccins, mais par les moyens reconnus propres à modifier les conditions chimiques ou vitales du terrain, à savoir l'exagération des échanges respiratoires et la déminéralisation organique qui fera l'objet d'une étude ultérieure.

Paris, 20 juillet 1901.



LABORATOIRE DES TRAVAUX PRATIQUES DE PHYSIOLOGIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS.

Recherches sur l'action cardiaque du Poison des Moïs

PAR

L. CAMUS.

L'étude de l'action cardiaque du poison des Moïs n'est pas entièrement inédite, déjà MM. L. FÉLIX HENNEGUY(1) et BOCHEFONTAINE(2) ont très bien décrit l'action systolique remarquable de cette substance, mais comme il n'a pas encore été fait, à ma connaissance, de publication détaillée sur ce sujet, il m'a semblé qu'il y avait quelque intérêt à reprendre cette étude en employant la méthode graphique.

La substance qui m'a servi dans ce travail m'a été obligeamment donnée par M. le Dr LABORDE qui la tenait de M. D'ENJOY. C'est au cours de son voyage de 1890 que M. D'ENJOY a recueilli ce poison; le bambou qui le contenait était encore intact quand il m'a été remis. A ce bambou était jointe la note suivante qui a dû être écrite par M. D'ENJOY lui-même, bien qu'elle ne porte pas sa signature :

« Tube en bambou, cacheté par moi en 1890, contenant du poison végétal dont font usage les tribus Moï (Cham, Tieng, etc.), tribus installées sur les rives du fleuve Dong-Nai, dans sa partie supérieure, au nord des arrondissements français de Biên-Hoa et Thu-Dau-Mòt (Cochinchine

(1) *Etude physiologique sur l'action des poisons.* Thèse, Montpellier, p. 126, 9 août 1875.

(2) *Action physiologique du poison des Moïs.* C.-R. Soc. de Biol., T. I, 8e série, p. 132, 8 mars 1884.

orientale), derrière la ligne des monts du Binh-Thuân et jusque vers le Laos inférieur. Ce poison, quand il m'a été remis, avait une consistance sirupeuse. Il était noirâtre, sans odeur. Je l'ai obtenu d'un indigène Moï, qui en avait à peu près un demi litre dans un grand bambou et s'occupait, au moment précis où je survins, à préparer des flèches. »

Le produit extrait du bambou était de couleur noirâtre, sec et cassant, quelques vermiculures témoignaient de plus que des êtres avaient vécu à son contact, si non à ses dépens, ce qui pouvait faire craindre qu'il eut perdu de sa toxicité par la conservation. Les renseignements donnés par les voyageurs sur la conservation de ce poison, sont assez peu concordants; quoiqu'il en soit dans le cas présent, quelques essais avec des solutions aqueuses m'ont vite démontré que sa toxicité était encore très grande.

Dans le but d'obtenir des résultats comparables, j'ai complété l'état de dessiccation du produit en le faisant séjourner quelque temps dans l'exsiccateur à acide sulfurique et j'ai toujours expérimenté avec un poids déterminé de poudre, épuisé avec une quantité bien déterminée d'eau, en général 1 partie de poudre pour 100 d'eau salée au titre physiologique. La poudre n'étant pas complètement soluble, il est indispensable de filtrer pour avoir une solution parfaitement transparente qui est de couleur brun rougeâtre.

Ce liquide est d'une grande toxicité et je me suis assuré que quelques gouttes injectées dans un sac lymphatique d'une grenouille la font mourir rapidement. Dans tous les cas il est aisé de constater que le cœur est primitivement touché et comme l'ont indiqué les expérimentateurs qui m'ont précédé, les systèmes nerveux et musculaires sont encore très excitables au moment où le cœur cesse de fonctionner.

Pour le chien et pour le lapin la toxicité est également très grande; des doses de 1/2 à 2 c.c. en injection intravasculaire les font mourir en peu de temps et l'empoisonnement cardiaque est le symptôme dominant.

Le plus souvent quand on ouvre le thorax d'une grenouille qui a reçu une dose mortelle de poison, on constate que le cœur s'arrête en systole, le ventricule est contracté, pâle et vide de sang. Ce caractère systolique du poison n'est pas un signe absolu; on peut, en effet, observer après intoxication le cœur arrêté, le ventricule n'étant pas rétracté ni complètement vidé. Cette inconstance de résultat que plusieurs fois j'ai observée sur la grenouille intacte ou privée de son système nerveux, m'a engagé à faire l'étude du poison sur le cœur isolé, complètement séparé de l'animal et fonctionnant avec un liquide artificiel, que ses mouvements faisaient circuler d'une façon régulière.

J'ai dans ce but imaginé un petit appareil (1) qui, sur les instruments du même genre, a ce double avantage de permettre une circulation à température constante et à pression constante et de faire varier la pression dans l'une ou l'autre partie du cœur, sans rien changer à la masse du liquide qui circule.

L'appareil, comme le montre la figure 1, se compose essentiellement de deux parties, un réservoir supérieur qui contient le liquide et une ampoule inférieure dans laquelle est renfermé le cœur. L'ampoule qui renferme le cœur est bouchée et traversée par trois tubes, l'un de ces tubes est en rapport avec la partie inférieure du réservoir d'une part et de l'autre avec la veine cave inférieure, c'est ce tube qui permet au liquide de passer du réservoir dans l'oreillette; le deuxième tube fait communiquer l'aorte avec la partie supérieure du réservoir, c'est par ce tube que revient au réservoir le liquide qui a traversé le cœur; enfin le troisième tube met en rapport l'air de l'ampoule qui forme cavité close avec un tambour enregistreur de MAREY. Le tambour inscripteur donne les changements de volume du cœur qui fonctionne.

Le liquide qui circule est de l'eau salée qui contient 6 à 7 gr. de chlorure de sodium par litre d'eau distillée et la quantité de ce liquide qui peut être variable a été en moyenne dans mes expériences de 1 c.c. La constance de la température est obtenue en plongeant l'ensemble de l'appareil, réservoir, tubes et ampoule, dans un vase renfermant une assez grande quantité d'eau convenablement chauffée. La constance de la pression est assurée par la stabilité de l'appareil, et les modifications de la pression sont obtenues très simplement par un double mouvement de rotation. Pour faire varier la pression dans la veine cave, il suffit d'incliner plus ou moins l'appareil; on peut ainsi l'amener de la valeur zéro, obtenue dans la position horizontale à une valeur maxima qui est représentée par la distance qui sépare la surface du liquide dans le réservoir, de l'embouchure de la veine cave quand l'appareil est dans la situation verticale. Pour chaque valeur de la pression veineuse on peut faire varier la pression dans l'aorte en faisant tourner l'appareil autour de son axe. Ainsi dans les situations (fig. 2 et fig. 3) la pression dans la veine cave est la même et la pression dans l'aorte est seule modifiée. En résumé toutes les combinaisons de pression artérielle et veineuse peuvent être réalisées en inclinant l'appareil autour de son axe et en le faisant tourner autour de cet axe;

---

(1) L. CAMUS : *Sur un appareil pour circulation artificielle dans le cœur isolé et à inscription de changement de volume.* C.-R. Soc. de Biol., LIII, 202, 23 février 1901.

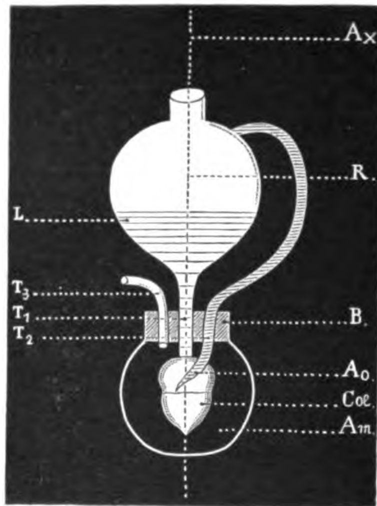


Fig. 1. — Am, ampoule; Ao, aorte; Ax, axe; B, bouchon; Cœ, cœur; L, liquide; R, réservoir; T_1, tube nº 1; T_2, tube nº 2; T_3, tube nº 3.

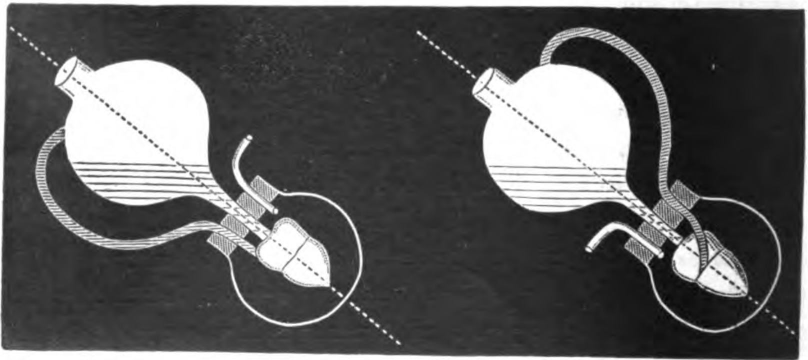


Fig. 2. Fig. 3.

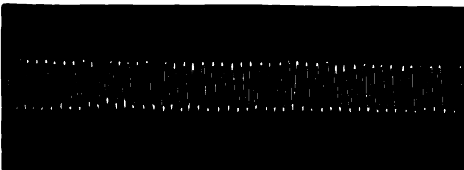


Fig. 4. — Tracé des changements de volume du cœur isolé d'une grenouille de 65 gr. Température, 20 degrés; vitesse du cylindre, 5 centimètres par minute.

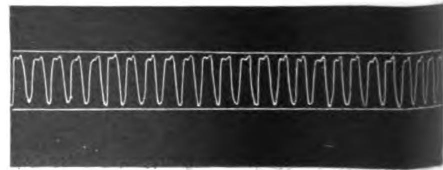


Fig. 5. — Tracé des changements de volume cœur isolé d'une grenouille ♂ de 26 gr

comme on le voit dans tous les cas la masse du liquide peut rester constante. Pour faire une expérience avec le poison on commencera par déterminer les conditions du fonctionnement du cœur, on prendra un tracé et l'on introduira alors par la partie supérieure du réservoir une petite quantité de la solution du poison, qui ne tardera pas à être intimement mélangée avec la masse du liquide qui circule. Le réservoir ayant un diamètre relativement grand, l'introduction du liquide ne modifiera pas la pression d'une façon appréciable; par exemple : 1/10 de c.c. de la solution du poison ajouté à 9/10 de c.c. d'eau salée feront une solution à 1 °/₀₀ de poison, solution très toxique, et la pression ne sera pas sensiblement modifiée.

Les tracés donnés par l'appareil se composent d'une série d'oscillations plus ou moins régulières, plus ou moins compliquées qui sont les indications des changements de pression à l'intérieur de l'ampoule. Une diminution de pression dans l'ampoule, ou ce qui revient au même, une diminution de volume du cœur (systole) détermine un abaissement de la plume du levier inscripteur; inversement une augmentation de pression à l'intérieur de l'ampoule, ou ce qui est la même chose, une augmentation de volume du cœur (diastole) détermine une élévation de la plume. Une ligne descendante est donc une ligne systolique, une ligne ascendante est une ligne diastolique.

Les lignes ascendantes et descendantes peuvent être des lignes droites et l'ensemble de la courbe être formée d'une série d'oscillations simples qui m'indiquent que l'ensemble systolique et diastolique des mouvements du cœur, c'est ce que donne par exemple le tracé fig. 4. Les grandes oscillations peuvent être accompagnées d'oscillations plus petites qui s'inscrivent soit entre deux grandes oscillations en haut de la courbe (fig. 5) soit sur la ligne descendante (fig. 6 ou fig. 7). Ces oscillations sont les indications des contractions auriculaires et permettent de séparer sur les tracés ce qui appartient à la systole auriculaire et à la systole ventriculaire. La systole auriculaire est faible dans le tracé, fig. 5, elle est plus importante dans le tracé, fig. 6, elle l'est davantage dans le tracé, fig. 7; inversement la systole ventriculaire qui suit la systole auriculaire est très marquée dans le tracé, fig. 5, et peu marquée dans le tracé, fig. 7. Dans le tracé, fig. 8, nous suivons la transformation d'une systole ventriculaire forte en systole auriculaire plus faible et inversement pour la systole auriculaire. L'indication de la systole auriculaire sur le tracé est due à ce que la contraction auriculaire fait refluer dans le réservoir une partie de liquide qui rentre immédiatement dans l'oreillette après sa systole. Une deuxième oscillation peut encore s'observer sur la ligne systolique qui se trouve ainsi partagée



Fig. 6. — Tracé des changements de volume du cœur isolé d'une grenouille ♂ de 42 gr.



Fig. 7. — Tracé des changements de volume du cœur isolé d'une grenouille ♂ de 24 gr.

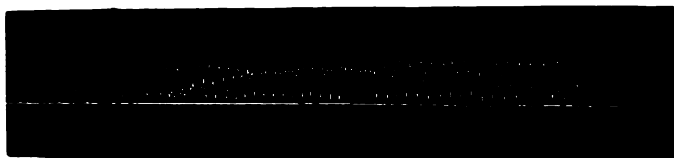


Fig. 8. — Tracé des changements de volume du cœur isolé d'une grenouille ♂ de 47 gr. Ce cœur qui était arrêté après intoxication a donné ce tracé sous l'influence d'une augmentation de pression ; au début du tracé l'oreillette fonctionne seule, puis peu à peu le ventricule se met à battre avec plus d'intensité, parallèlement les mouvements de l'oreillette diminuent d'amplitude et à la fin du tracé, l'amplitude des mouvements du ventricule diminuent et ceux des oreillettes augmentent.

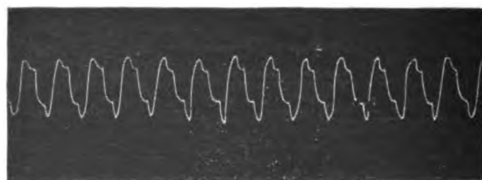


Fig. 9.

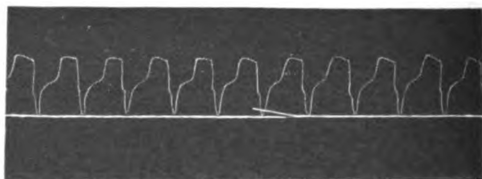


Fig. 10.

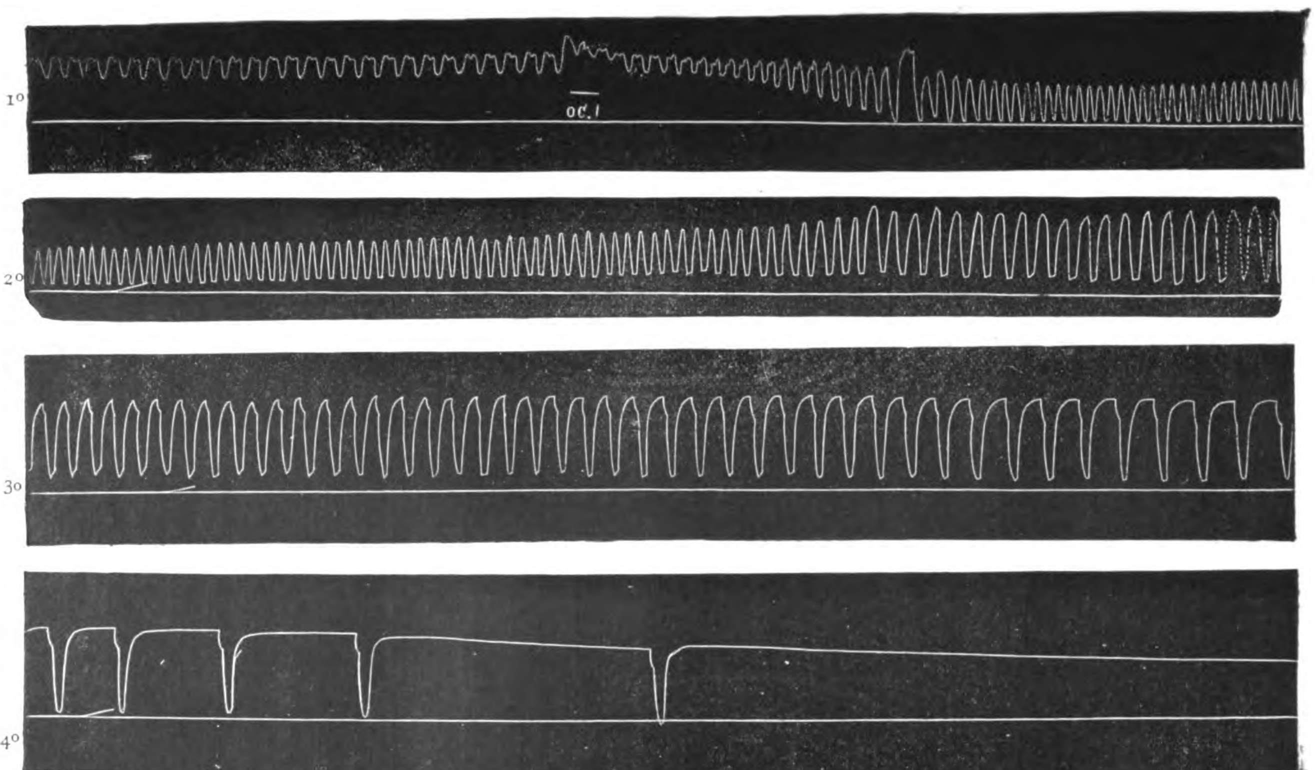


Fig. 11. — Tracé des changements de volume du cœur isolé d'une grenouille ♂ de 55 gr. Température : 15°; volume du liquide circulant 1 c.c.; pression dans la veine 1 cent.; pression dans l'aorte 2,4 c.; vitesse du cylindre 5 cent. par minute. Au milieu de la 1re ligne on ajoute 0,1 c.c. d'une solution de poison des Moïs à 1 0/0.

en trois parties; cette deuxième oscillation qui s'observe sur le tracé, fig. 9, est l'indication d'une systole ventriculaire se faisant en deux temps, le ventricule se vide en deux fois. Enfin, la ligne diastolique peut aussi être une ligne brisée, le remplissage du cœur peut se faire en deux temps; nous en avons un exemple dans la figure 10.

L'action du poison des Moïs sur le cœur isolé se trouve bien indiquée dans ce qu'elle a de plus caractéristique dans les tracés de la fig. 11.

Cette expérience a été faite avec le cœur d'une grosse grenouille mâle du poids de 55 gr., la quantité totale du liquide circulant (poison compris) était de 1 c.c., la pression était de 1 centimètre dans la veine cave et de 2,4 c. dans l'aorte, la température était de 15 degrés. Le cœur qui, dans ces conditions, fonctionnait régulièrement et peu énergiquement, change son rythme immédiatement après que le poison a été ajouté (on a ajouté 0,1 c.c. d'une solution à 1 °/₀, ce qui a fait une proportion de 1 °/₀₀ du poison dans la solution qui circule). Les systoles deviennent plus énergiques, le cœur se contracte plus complètement, sa pointe se rapproche davantage de sa base, ce qui s'indique sur le tracé par un abaissement du niveau inférieur de l'ensemble du tracé. Le nombre des battements cardiaques augmente; de 19 par minute il s'élève à 35; les pulsations auriculaires, qui se distinguaient très nettement avant qu'on ait ajouté le poison, ne sont plus lisibles quand le cœur est accéléré, mais elles reparaissent quand le cœur commence à se ralentir. Le cœur ne tarde pas à se laisser distendre davantage, le niveau supérieur de l'ensemble de la courbe s'élève progressivement; les systoles restant énergiques, le cœur fonctionne davantage; peu à peu cependant les pulsations se ralentissent, les systoles s'espacent, mais se maintiennent très énergiques; puis la durée des diastoles continuent à augmenter, le cœur finit par s'arrêter en diastole. Après l'arrêt, le muscle cardiaque revient quelque peu sur lui-même, car la ligne s'abaisse lentement et légèrement.

Ce poison a donc donné naissance à des manifestations systoliques importantes et si le cœur s'est arrêté en diastole, cela tient aux conditions particulières de son fonctionnement.

Une indication systolique non moins remarquable, une véritable tendance au tétanos s'observe sur le tracé, fig. 12. Dans cette expérience faite avec le cœur d'une grenouille mâle du poids de 26 gr., la quantité du liquide circulant était de 0,9 c.c., la pression dans l'oreillette de 2,5 c. et dans l'aorte de 3,7 c., la quantité de la solution du poison, ajoutée 12 min. avant cette phase, avait été de 1,80 c., ce qui faisait une proportion de 0,137 °/₀₀ de poison dans le liquide circulant.

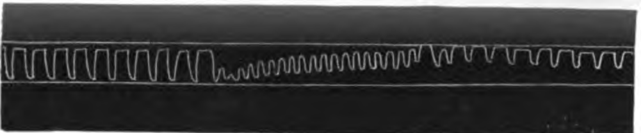


Fig. 12. — Tracé des changements de volume du cœur isolé d'une grenouille ♂ du poids de 26 gr.

Fig. 13. — Même indication que pour la figure précédente.

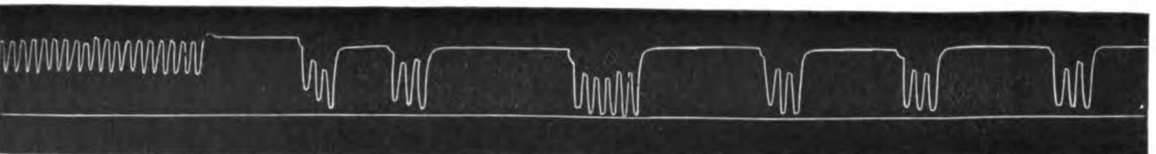
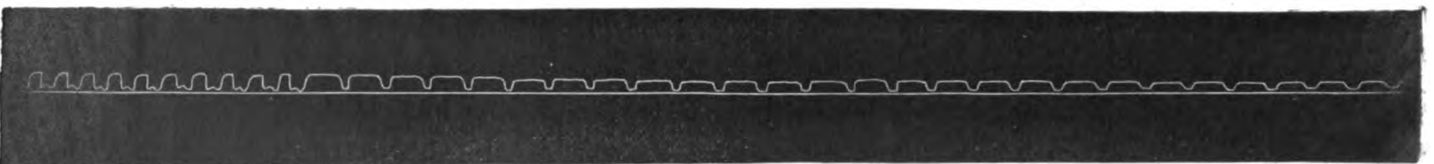


Fig. 14. — Tracé des changements de volume du cœur isolé d'une grenouille ♂ de 45 gr. Quantité de liquide circulant : 0,9 c.c. ; pression dans la veine 1,7 c. ; pression dans l'aorte 3,4 c. ; vitesse du cylindre 5 cent. par minute. Intoxication par le poison des Moïs.

1°



2°

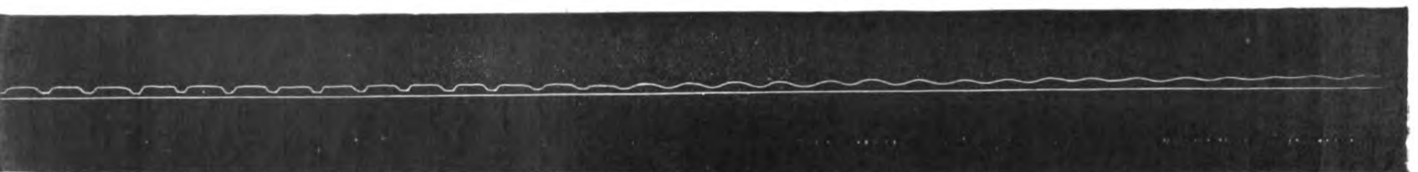


Fig. 15. — Tracé des changements de volume du cœur isolé d'une grenouille ; persistance des contractions auriculaires après arrêt du ventricule.

Le tracé, fig. 13, qui est relatif à la même expérience et qui a été obtenu trois minutes après le précédent, montre qu'au cours de l'intoxication des irrégularités rythmiques peuvent se produire toutes les 3 pulsations; en effet, nous voyons deux systoles rapprochées se produire.

Sur le tracé de la fig. 14, relatif à une autre expérience et donné par un cœur très intoxiqué et sur le point de s'arrêter, nous voyons quelques pulsations régulières se reproduire rythmiquement, après une pose diastolique très marquée. Enfin, dans bon nombre d'expériences on peut observer la persistance des contractions auriculaires après l'arrêt des mouvements du ventricule, les tracés de la fig. 15 en fournissent un exemple.

L'action systolique du poison des Moïs peut facilement se constater sur le cœur de la grenouille laissé en place. Avec la pince cardiaque on obtient très aisément des tracés démonstratifs de cette action, soit sur la grenouille intacte, soit sur la grenouille privée de son système nerveux.

Le tracé, fig. 16, est le tracé du cœur d'une grenouille femelle du poids de 21 gr., à moelle détruite. Après la partie développée du graphique, on instille en I 3 gouttes du poison des Moïs, solution à 1 % sur le cœur; l'action systolique se manifeste rapidement, en S le ventricule est arrêté en systole et pendant quelques instants encore le ventricule communique à l'appareil des mouvements qui lui sont transmis par les oreillettes qui s'arrêtent les dernières.

Mais au lieu de cet arrêt systolique, on peut obtenir, en modifiant quelque peu l'état de la circulation, l'arrêt en diastole. Je suis arrivé un certain nombre de fois à ce résultat, en injectant préalablement une certaine quantité d'eau salée dans un sac lymphatique ou dans les vaisseaux de la grenouille.

Le tracé, fig. 17, a été obtenu avec la pince cardiaque appliquée sur le ventricule du cœur d'une grenouille femelle du poids de 30 gr. qui avait reçu dix minutes avant l'expérience 1 c.c. d'eau salée dans un sac lymphatique; cette grenouille a eu ultérieurement le système nerveux détruit, puis on a fait agir le poison. Sur la partie du tracé, reproduit ici et composé de 2 lignes qui se font suite, on voit très nettement les systoles ventriculaires s'espacer et le ventricule se distendre sous l'influence des mouvements de l'oreillette qui ont persisté, dans un cas 2 systoles de l'oreillette précèdent une systole du ventricule, dans l'autre six contractions de l'oreillette ont lieu avant la contraction du ventricule.

La distension du ventricule, sous l'influence des contractions isolées des oreillettes, est bien évidente sur ce tracé, et l'on doit bien établir la différence qui existe entre les cas analogues à celui-ci, et ceux dans

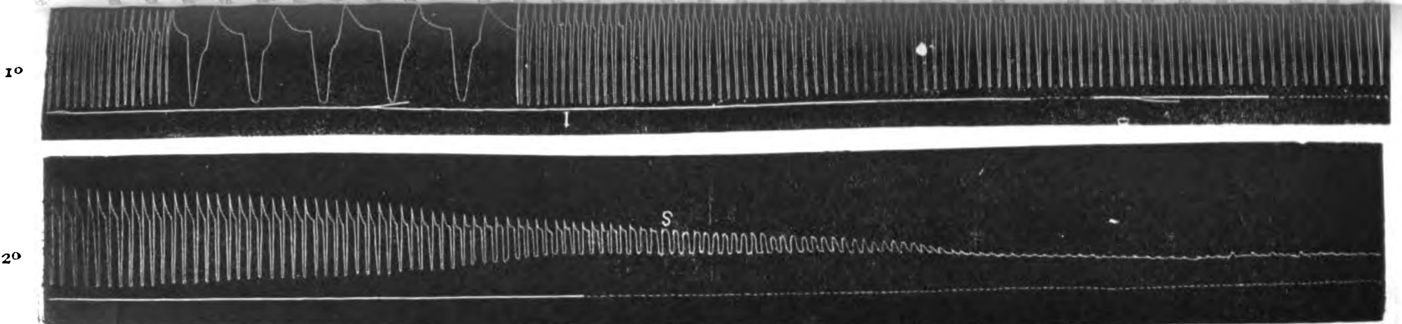


Fig. 16. — Tracé obtenu avec la pince cardiaque sur le cœur d'une grenouille ♀ de 21 gr. à moelle détruite. Vitesse du cylindre : 5 cent. par minute, sauf pour les 4 pulsations développées, en I on instille sur le cœur 3 gouttes d'une solution à 1 °/₀ de poison des Moïs. Ces 2 lignes se font suite, en S le ventricule s'arrête en systole, les oscillations suivantes sont des mouvements communiqués au ventricule par les oreillettes qui continuent à se contracter.

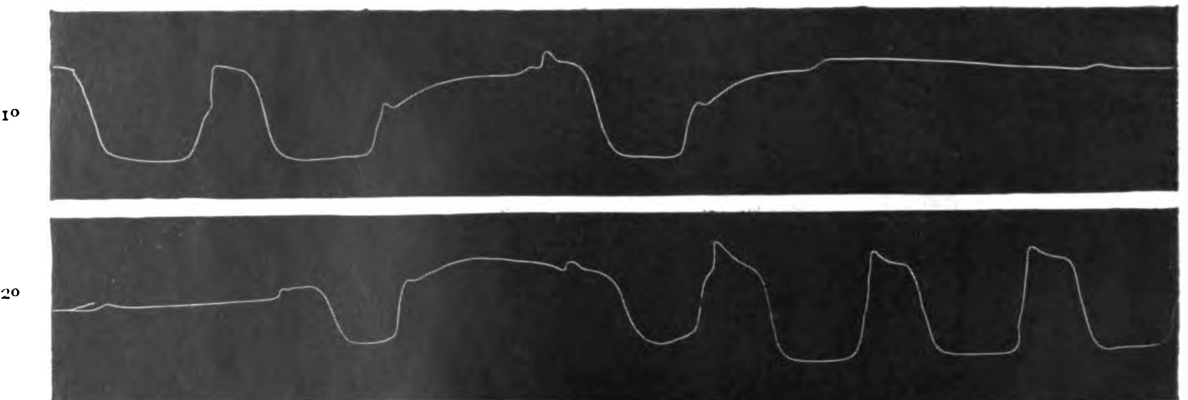
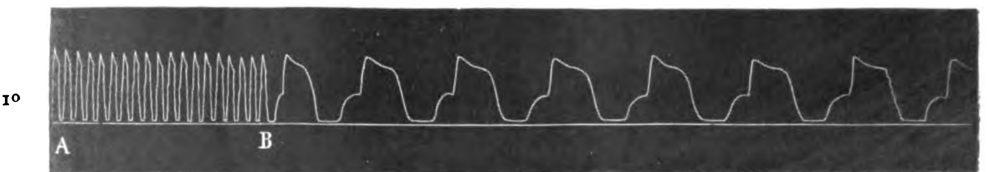


Fig. 17. — Tracés obtenus avec la pince cardique. Grenouille ♀ du poids de 30 gr. à moelle détruite. 10 minutes avant l'expérence l'animal a reçu une injection de 1 c.c. d'eau salée à 8 °/₀₀ dans un sac lymphatique. Tendance à l'arrêt diastolique. Ces 2 tracés se font suite.

1°



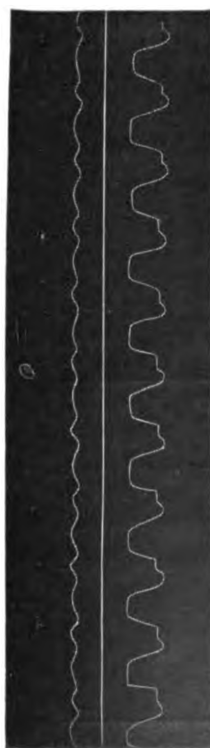
2°



3°



Fig. 18. — Tracés obtenus avec la pince cardiaque. Grenouille ♀ de 29 gr. à moelle détruite. Ces 3 tracés se font suite et appartiennent à la fin d'une expérience d'empoisonnement avec le poison des Moïs. Entre A et B vitesse 5 centim. par minute. Dans le reste des tracés la vitesse du cylindre est augmentée. A la 3e ligne arrêt systolique du ventricule, continuation de l'inscription des mouvements des oreillettes qui se communiquent au ventricule. 1 h. 30′ avant l'expérience la grenouille avait reçu une injection de 1 c.c. d'eau salée dans un sac lymphatique.



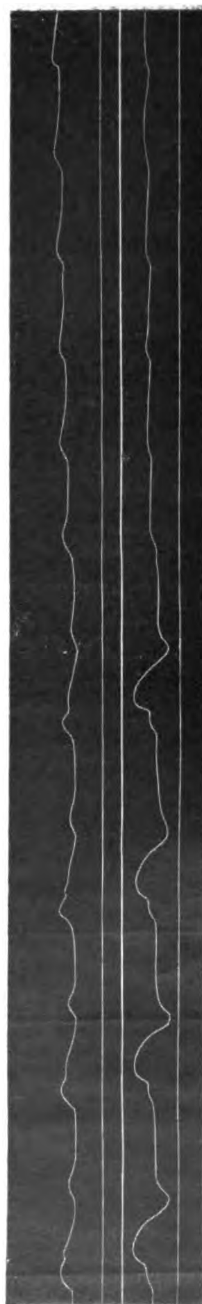


Fig. 19. — Inscriptions séparées des mouvements des oreillettes O et du ventricule V avec le cardiographe double. Grenouille ♀ 29 gr., moelle détruite. 1° Tracé avant l'intoxication; 2° Tracé à la fin de l'intoxication. Le ventricule s'arrête au milieu de la 2e ligne et se laisse ensuite distendre par la pression et les contractions des oreillettes. Avant l'expérience la grenouille avait reçu une injection de 1 1/2 c.c. d'eau salée.

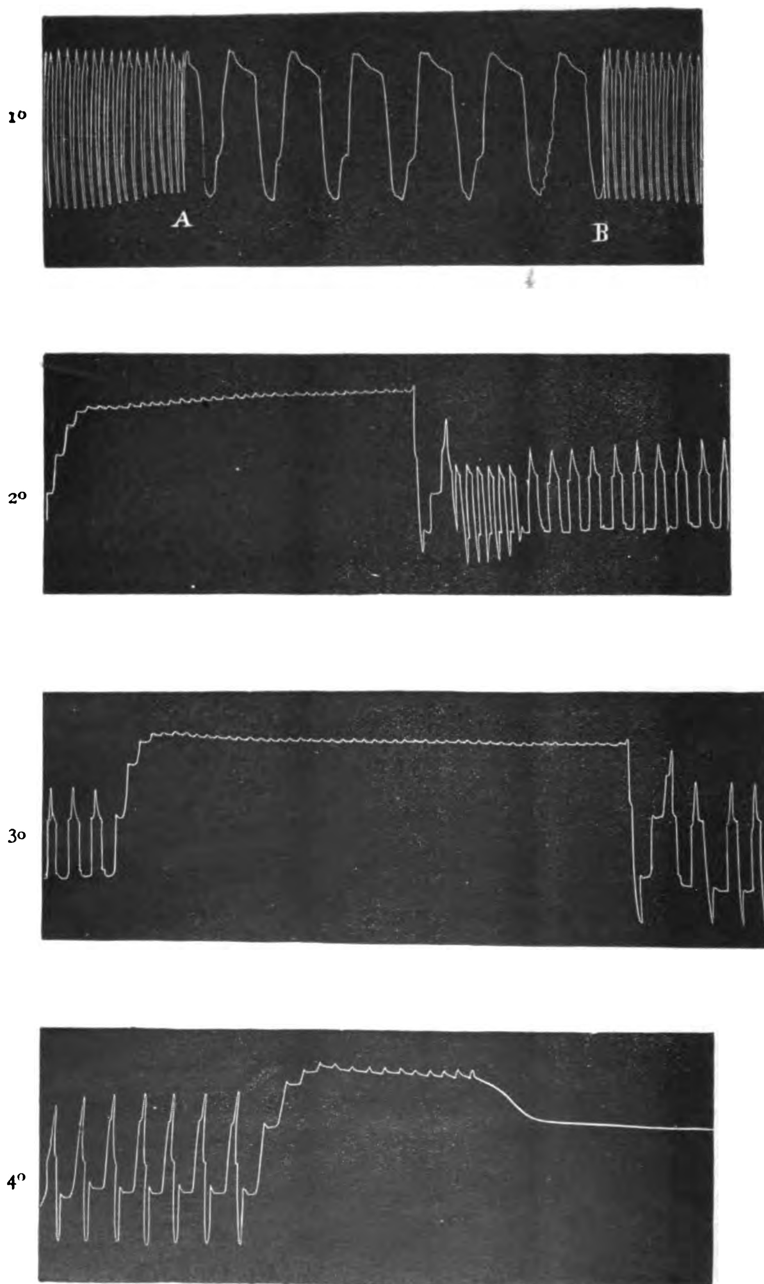


Fig. 20. — Tracés obtenus avec la pince cardiaque sur une grenouille ♂ de 30 gr. à système nerveux intact. Les tracés 2° et 3° se font suite. Le tracé 1° a été obtenu avant l'instillation du poison. La vitesse du cylindre a été de 5 cent. par minute sauf entre A et B. Injection de 1 c.c. d'eau salée 10 minutes avant l'expérience.

lesquels le ventricule, s'arrêtant en systole, on continue à obtenir un tracé du mouvement des oreillettes par le déplacement passif du ventricule. Le tracé, fig. 18, nous montre un exemple de ce genre; ici, le ventricule ne se distend plus sous l'influence des contractions de l'oreillette, le cardiographe enregistre simplement un mouvement de transmission, les cuillerons de l'appareil ne sont plus écartés par la distension du ventricule, le niveau général de la courbe reste horizontal.

J'ai encore obtenu des tracés analogues à ceux de la figure 18 en employant le double cardiographe, et ces tracés donnent une analyse plus détaillée du phénomène. La figure 19 donne séparément et superposés les tracés de l'oreillette et du ventricule. On voit très bien, d'après ce tracé, que les petits soulèvements observés sur les tracés donnés par la pince cardiaque correspondent bien à des systoles auriculaires; sur la deuxième partie de la figure 19, qui est relative à une phase avancée de l'intoxication, on voit très nettement 4 contractions ventriculaires séparées chacune par 2 systoles des oreillettes; puis, ensuite, l'état diastolique se montre avec évidence aussi bien pour le ventricule que pour les oreillettes, qui seules persistent à se contracter sans se vider complètement.

Les 4 tracés de la figure 20 ont été obtenus avec la pince cardiaque sur une grenouille mâle du poids de 30 gr.; dix minutes avant l'expérience, cette grenouille avait reçu 1 c.c. d'eau salée en injection sous-cutanée. Le système nerveux n'a pas été détruit. La 1re ligne du tracé est un tracé normal donné par le cœur avant d'avoir fait agir le poison; l'instillation de 2 gouttes de poison sur le cœur a été suivie d'une action systolique remarquable et a donné lieu à des mouvements de l'animal. Enfin dans une phase plus avancée, 10 minutes après le début de l'intoxication, on a obtenu les tracés ligne 2 et ligne 3 qui se font suite; sur ces tracés on voit très bien l'arrêt du ventricule et sa dilatation produite par les contractions persistantes de l'oreillette; enfin, la dernière ligne, obtenue trois minutes après, donne la fin de l'expérience, dilatation du ventricule et arrêt des oreillettes.

Enfin, les figures 21, qui sont toutes empruntées à la même expérience, montrent bien l'ensemble des phénomènes que l'on peut observer sur un cœur de grenouille. L'expérience a été faite avec une grenouille mâle à mœlle détruite du poids de 25 gr.; 1/2 heure avant l'expérience cette grenouille avait reçu une injection de 1 c.c. d'eau salée dans un sac lymphatique. Les lignes 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 ont été prises en partie avec une vitesse plus grande pour montrer le détail des modifications produites dans le diagramme cardiaque. Les lignes 1, 2, 3 se font suite

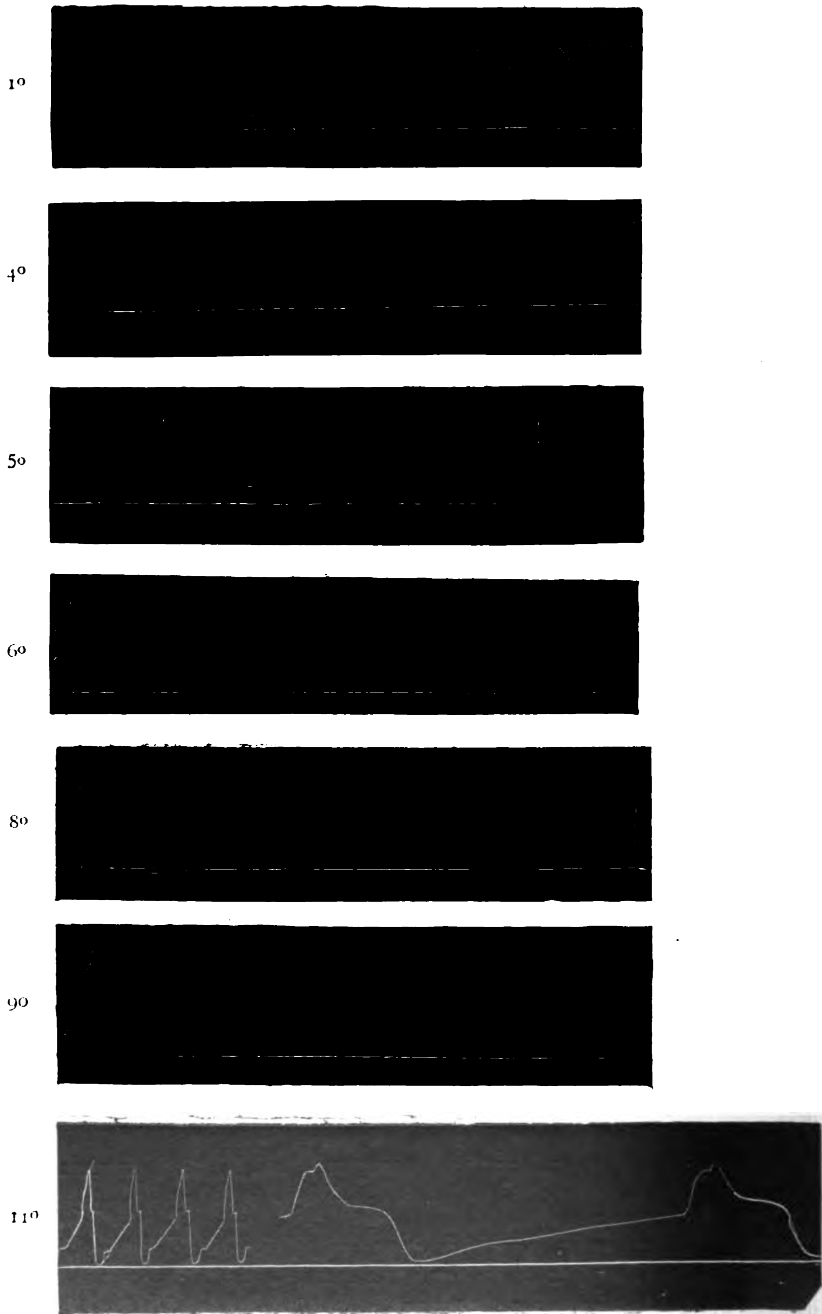


Fig. 21. — Tracés obtenus avec la pince cardiaque. Grenouille ♂ de 25 gr., à moelle détruite ayant reçu 1/4 d'heure avant l'expérience une injection de 1 c.c. d'eau salée dans un sac lymphatique. En I instillation sur le ventricule de 0,1 c.c. d'une solution à 1 % de poison des Moïs.

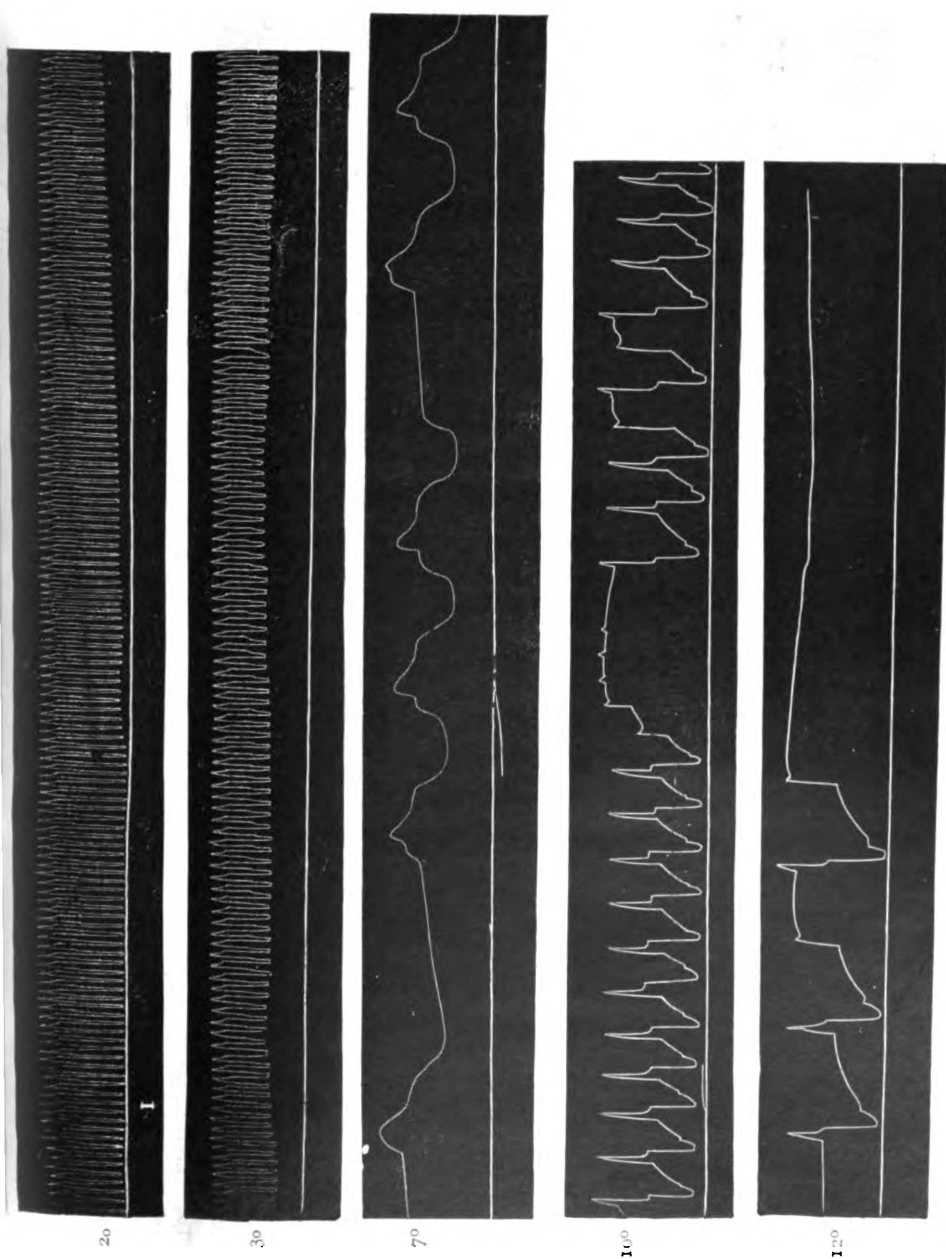


Fig. 21.

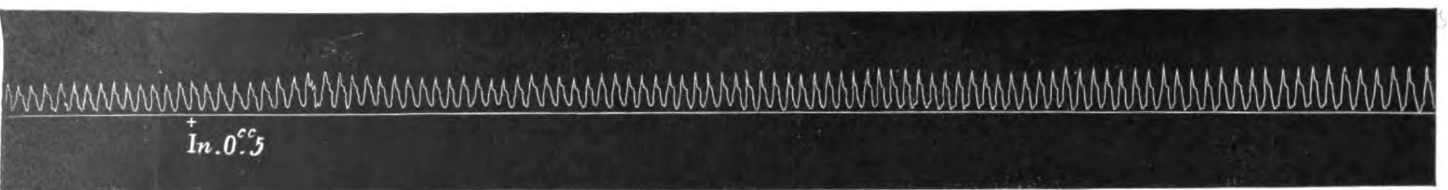
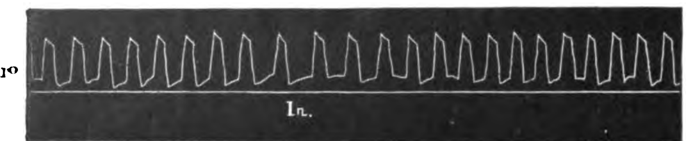
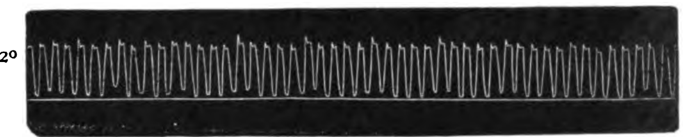


Fig. 22. — Lapin mâle albinos, poids : 970 gr. ; bulbe coupé, respiration artificielle, thorax ouvert, tambour manipulateur en rapport avec le ventricule gauche ; In. : injection de 0,5 c.c. de poison des Moïs, solution à 1 %; injection faite dans la veine jugulaire gauche. Vitesse : 43 centimètres par minute.

1°



2°



3°

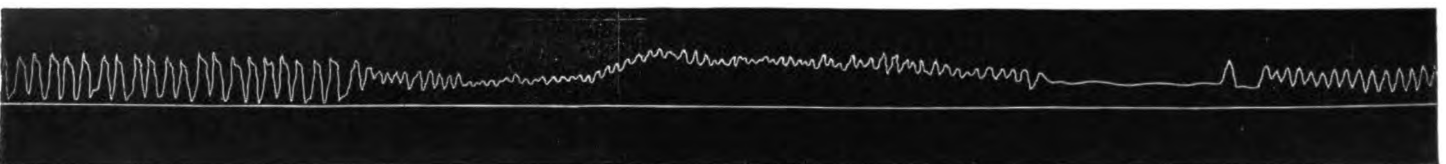


Fig. 23. — Lapin albinos, poids 2900 gr. ; bulbe coupé, respiration artificielle, tambour manipulateur en rapport avec le ventricule gauche. In., injection dans la veine jugulaire gauche de 1 c.c. d'une solution de poison des Moïs à 1 %. Vitesse 43 cent. par minute. — 2° Tracé obtenu 2' 1/2 après l'injection. — 3° Tracé recueilli 5' 48'' après l'injection ; trémulations.

sans interruption; on voit qu'après l'instillation de 0,1 c.c. de la solution à 1 % du poison, le cœur a présenté un état systolique très net avec des oscillations toniques sur lesquelles nous aurons l'occasion de revenir. La ligne 7, qui est une partie développée, montre un début d'action diastolique; le ventricule se laisse distendre par deux contractions successives des oreillettes avant de se vider. On observe encore même phénomène sur la ligne 10; puis la ligne 12 donne la fin de l'expérience, les oreillettes s'arrêtent, le ventricule étant distendu. L'expérience a duré 45 minutes.

L'ensemble de ces expériences établit la nature systolique du poison des Moïs, et montre que l'arrêt diastolique, observé dans certaines

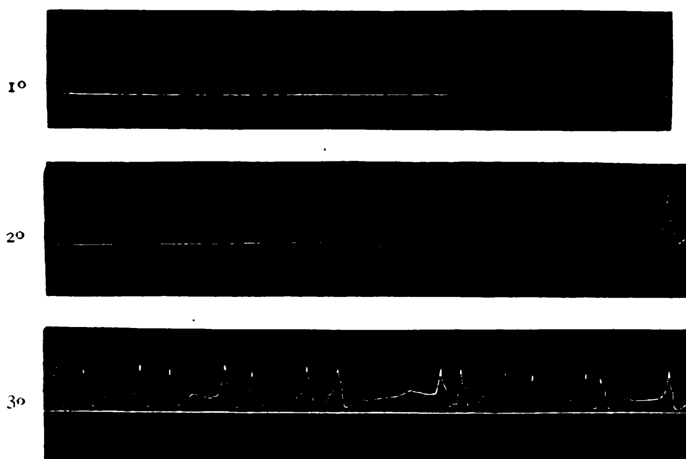


Fig. 24. — Lapin albinos mâle, poids 930 gr.; bulbe coupé, respiration artificielle, poitrine ouverte, ventricule gauche en rapport avec un tambour manipulateur. — Tracé 1° immédiatement avant l'injection de 1/2 c.c. de la solution à 1 % de poison des Moïs dans la même jugulaire gauche. Tracé 2° recueilli 1 minute après l'injection. Tracé 3°. 4 minutes après l'injection. Vitesse du cylindre : 43 cent. par minute.

conditions, n'est pas un phénomène caractéristique de l'action physiologique de ce poison. Ce n'est que par l'ensemble des phénomènes cardiaques que se trouve caractérisée la nature systolique de la substance. L'état, dans lequel le cœur s'arrête, n'est pas un caractère absolu, c'est un caractère qui peut varier avec les conditions mécaniques de la circulation.

J'ai étudié également sur le lapin et sur le chien l'action du poison sur le cœur et sur la circulation.

Dans les tracés suivants on retrouvera facilement les principaux caractéres de l'action cardiaque, que nous avons déjà rencontrés sur les tracés du cœur de la grenouille.

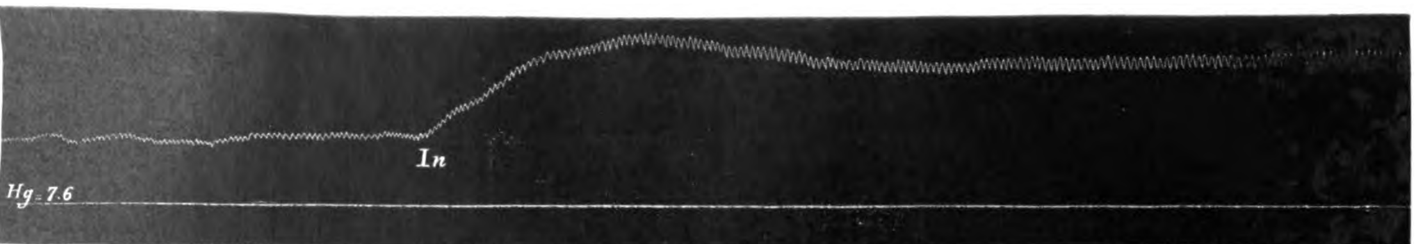


Fig. 25. — Lapin ♂, poids 1615 gr. Pression dans la carotide gauche B. C., en In., injection dans la veine marginale gauche de 1/2 c.c. d'une solution à 1 % de poison des Moïs.

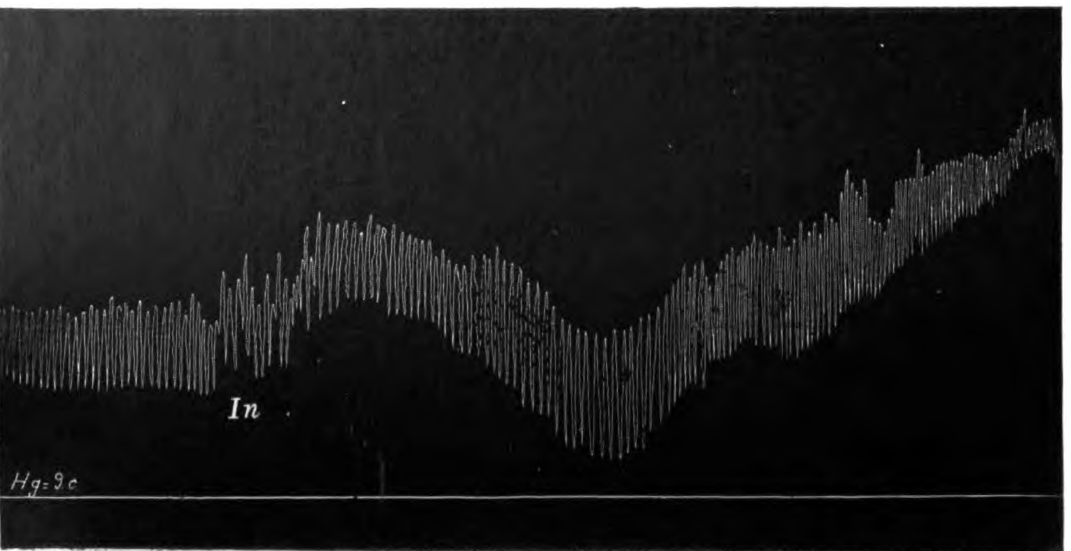


Fig. 26. — Chien roquet, poids 6600 gr. Pression dans l'artère fémorale droite B. C. Vitesse du cylindre 5 cent. en 1 minute. In., injection dans la veine fémorale droite de 0,02 gr. de poison des Moïs. Pression au niveau de la ligne horizontale : Hg = 9 c.

Le tracé, fig. 22, est un tracé obtenu avec le tambour manipulateur, mis directement en rapport avec le ventricule gauche du lapin ; l'animal avait le bulbe coupé, le thorax ouvert, et on lui faisait la respiration artificielle. On voit très bien sur ce tracé l'augmentation d'amplitude des

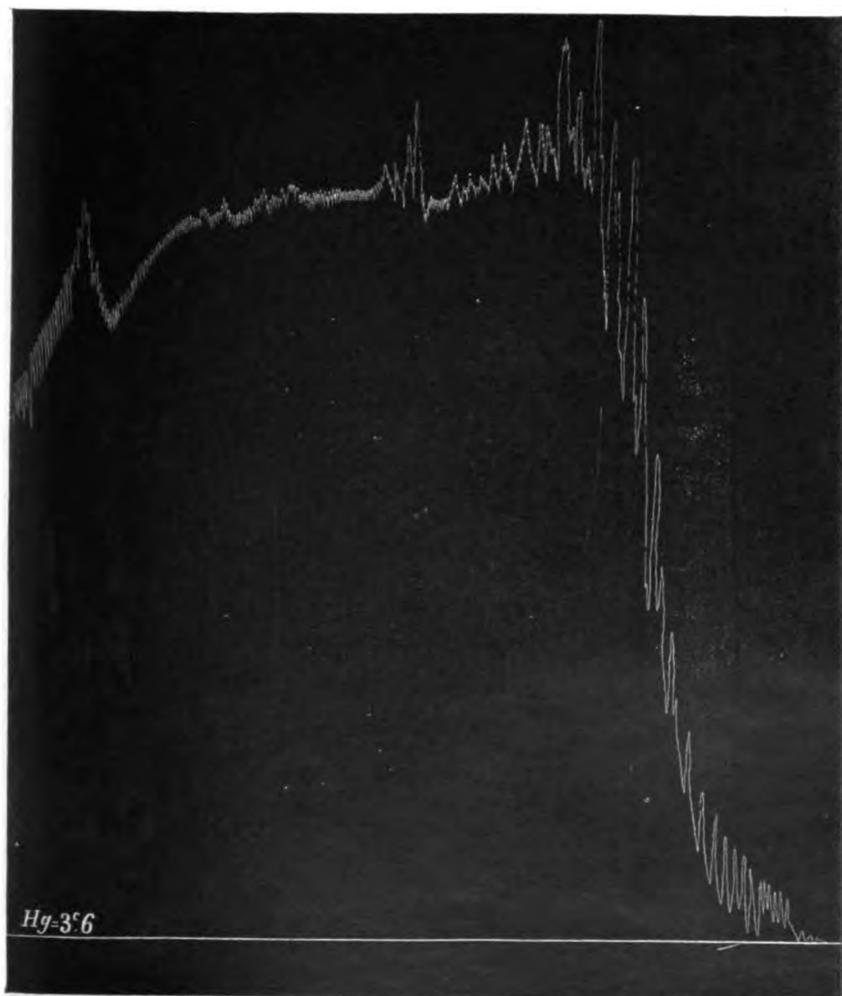


Fig. 26bis. — Mêmes indications que figure 26 ; suite et fin de la même expérience.

mouvements cardiaques succéder à l'injection du poison, puis en même temps le cœur se ralentit légèrement.

A la suite de l'injection du poison, on peut encore observer l'accélération du cœur du lapin, si préalablement le rythme a été quelque peu

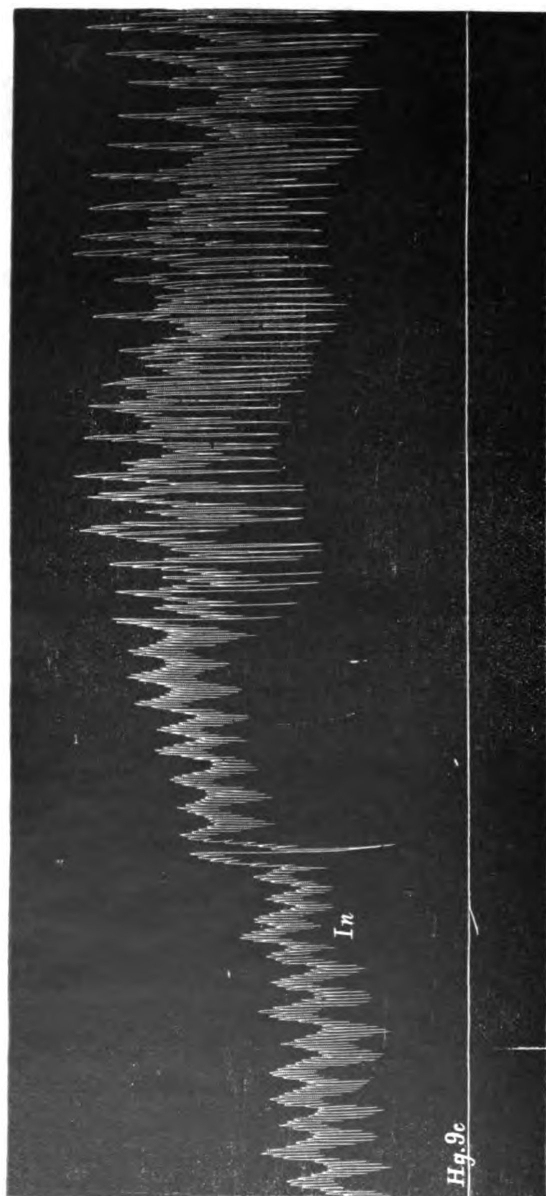


Fig. 27. — Chien roquet, poids 5500 gr. Pression dans l'artère fémoral gauche, en In., injection dans la veine fémorale gauche de 0,4 c., d'une solution à 1 o/o des Moïs. Vitesse 5 centim. par minute.

ralenti. Les tracés, fig. 23 1° et 2° rapprochés, montrent très nettement ce phénomène.

La figure 23 3° appartient à la même expérience. Sur ce tracé on trouve bien indiqué l'apparition des trémulations qui s'observent fréquemment à la période ultime de l'intoxication cardiaque. Sur plusieurs animaux j'ai pu observer et inscrire la reprise des contractions rythmiques après une phase plus ou moins prolongée de trémulation.

Parmi d'autres phénomènes de la phase d'intoxication, déjà notés sur les tracés du cœur de la grenouille, nous retrouvons sur les tracés du cœur du lapin des poses prolongées, se reproduisant rythmiquement par exemple

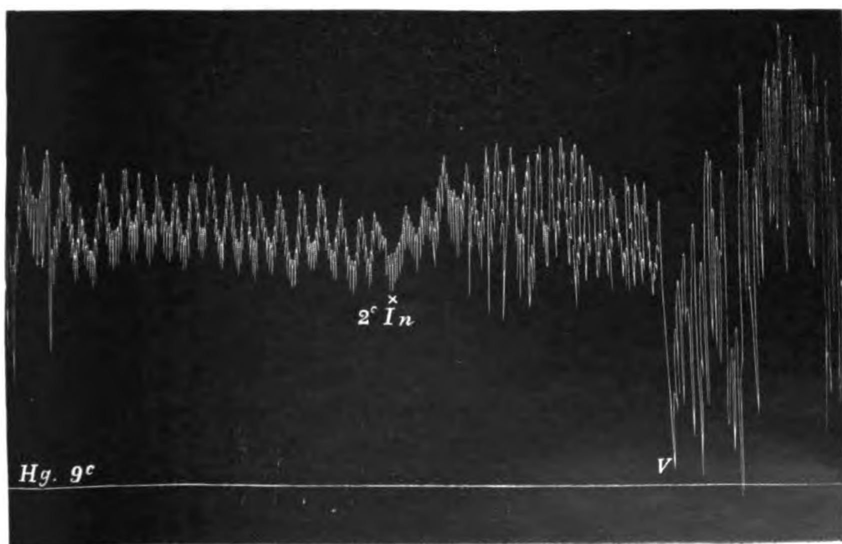


Fig. 27bis. — Chien roquet, poids 5500 (suite de l'expérience, fig. 27), mêmes indications, en In. deuxième injection dans la veine fémorale de 0,4 c., même solution, en V, vomissements.

toutes les deux pulsations (fig. 24). Les deux lignes de tracés, qui précèdent, sont relatives à la même expérience et permettent de constater une fois de plus le ratentissement cardiaque à la suite de l'intoxication.

Les tracés de la pression sanguine ne donnent pas des résultats moins significatifs; sur le tracé, fig. 25, qui donne la courbe de la pression sanguine prise dans l'artère carotide gauche d'un lapin albinos mâle du poids de 1615 gr., on constate une élévation de la pression immédiatement après l'injection dans la veine marginale de l'oreille gauche d'un demi centimètre cube d'une solution à 1 % de poison des Moïs. Comme sur les tracés cardiaques on constate aussi un ralentissement et une augmentation d'amplitude des mouvements cardiaques. La mort de l'animal, dans cette

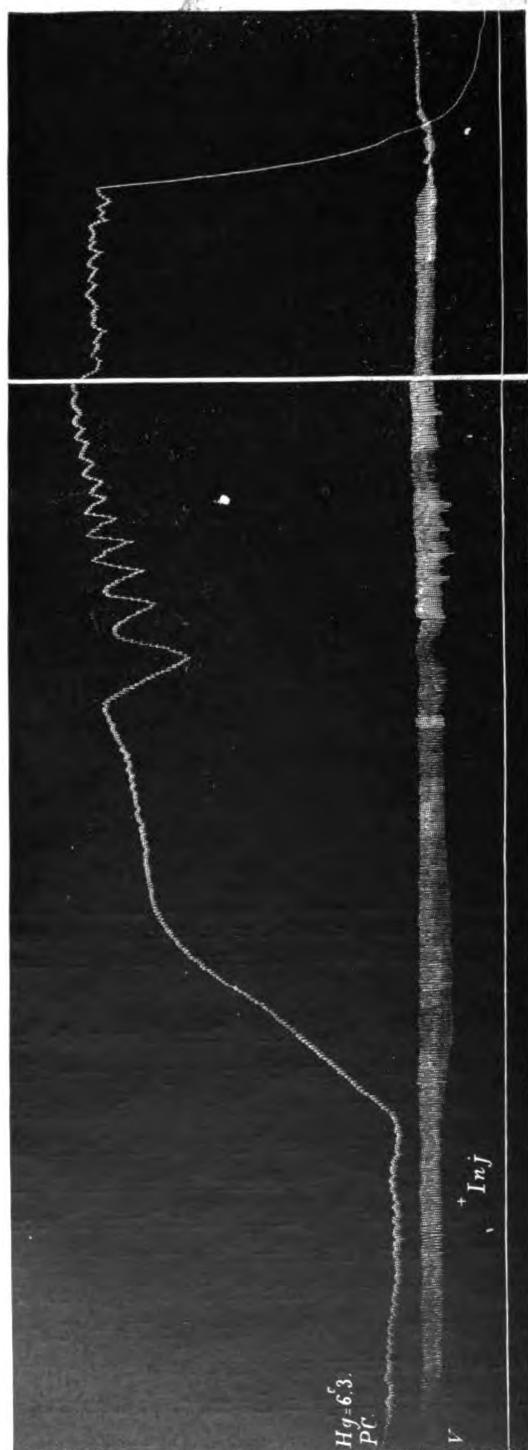


Fig. 28. — Chien ratier, poids : 6 kilogr. P.C., pression dans l'artère carotide gauche; V, changements de volume du cœur. Vitesse du cylindre, 5,4 centim. par minute. Hg au début 6,3 centim. L'animal a le bulbe coupé et le thorax largement ouvert. Inj., injection dans la veine gauche de 2 c.c. solution à 1 o/o de poison des Moïs. La partie droite de la figure donne la fin de l'expérience.

expérience, eut lieu 12 minutes après l'injection, la pression, qui au début de l'expérience était de 9,2 centim. de Hg, s'est élevée après l'injection à 12 centim. et est tombée à zéro au moment de l'arrêt du cœur, après avoir présenté une série d'oscillations. Dans tous les cas, l'ouverture des ventricules, immédiatement après l'arrêt cardiaque, m'a permis de constater que ces cavités renfermaient une certaine quantité de sang.

Les résultats expérimentaux, obtenus en opérant sur le chien, sont tout à fait concordants avec les précédents. Dans l'expérience, dont le graphique se trouve en entier reproduit (fig. 26 et 26bis), nous voyons qu'une injection de 2 c.c. dans la veine fémorale d'un chien de 6,6 kilogr. a déterminé un ralentissement cardiaque avec augmentation d'amplitude des contractions, puis une élévation très importante de la pression accompagnée d'une accélération cardiaque très marquée. La mort s'est produite en moins de 5 minutes.

Les tracés, fig. 27 et 27bis, qui se suivent et qui ont été fournis par un chien roquet du poids de 5,5 kilogr. qui avait reçu une dose beaucoup plus faible de poison, montrent très bien les effets cardiaques de la substance, le deuxième tracé, fig. 27bis, permet de constater la reproduction du phénomène par une deuxième injection semblable à la première. Les mêmes effets consécutifs à l'injection se sont reproduits avec atténuation. De très près cette deuxième injection a été suivie de vomissements. On observe fréquemment la production du vomissement quand la dose de poison injectée est un peu forte et si l'animal a son système nerveux intact.

Les deux derniers tracés, fig. 28, qui se font suite, ont été donnés par un chien griffon du poids de 6 kilogr. Sur ces tracés, outre la reproduction des phénomènes déjà connus, on peut encore constater plus aisément à l'aide du tracé des changements de volume du cœur, l'augmentation d'amplitude des mouvements cardiaques sous l'influence de l'injection du poison.

Comme avec le lapin dans tous les cas j'ai observé chez le chien que les ventricules arrêtés renfermaient une certaine quantité de sang.

En résumé, d'après cette étude et d'après l'ensemble de ces tracés, le poison des Moïs est un toxique cardiaque; il est possible d'observer au cours de l'intoxication, ainsi que nous l'avons montré, une série de modifications cardiaques qui se reproduisent aussi bien sur le cœur de la grenouille que sur le cœur du chien ou du lapin, et dans tous les cas l'action systolique est tout-à-fait évidente.

Paris, juin 1901.

Travail du Laboratoire de Pharmacologie de l'Université de Palerme.

Sur le mécanisme de l'action de l'igazol

PAR

V. CERVELLO.

Lorsque je publiais les premières expériences cliniques sur les inhalations d'igazol dans le traitement de la tuberculose pulmonaire, j'affirmais qu'on pouvait en obtenir certainement de bons résultats, à condition qu'il y eut le concours de tous les facteurs hygiéniques auxquels la réparation organique est confiée, et j'ai conclu en disant que je ne présentais pas à la thérapie un spécifique infaillible, mais seulement un système de traitement local qui ne peut devenir utile que si toutes les autres conditions qui rendent l'organisme capable de la plus active résistance sont assurées.

En effet, ma méthode a pour but d'aider ces énergies naturelles qui tendent à la guérison spontanée de la tuberculose pulmonaire.

Les expériences faites depuis environ trois années sur ma méthode, quand elle a été employée dans les conditions que j'ai établies, ont démontré que mes conclusions étaient exactes; bien plus, je peux dire que les autres observateurs ont obtenu des résultats encore plus encourageants que les miens.

Dès le commencement de mon étude clinique, j'essayais de me rendre compte du mode d'action de l'igazol et j'énonçais, comme une simple hypothèse, qu'il s'agissait probablement d'une action oxydante, exercée par l'aldéhyde formique sur les bacilles de la tuberculose et sur leurs produits, et que la nutrition générale et l'hématose devaient aussi être

excitées. Par ce mécanisme, l'igazol réussirait facilement à imiter la nature.

Pour appuyer cette hypothèse je n'avais pas de données expérimentales, que j'ai seulement pu obtenir dan ces derniers temps, et que j'ai l'honneur de communiquer aujourd'hui.

Dans mes expériences j'ai employé l'igazol, c'est-à-dire l'association de l'aldéhyde formique au chloral hydraté, à la terpine et à l'iodoforme, parce que mon but était justement de connaître l'action de cette association. Je ferai connaître, lorsque j'aurai fini toutes les expériences que je suis en train de faire, quel est le rôle que joue chacun de ces corps.

L'influence que les inhalations d'igazol exercent sur la nutrition générale est rapide et considérable. Je compris bientôt qu'elle ne peut pas être seulement une conséquence de l'atténuation des symptômes de la tuberculose pulmonaire, parce que même les individus sains qui faisaient les inhalations et ceux qui travaillaient à la préparation du médicament montraient les mêmes effets. J'en concluais donc que l'igazol n'agissait pas seulement sur les phénomènes morbides, mais il devait exciter directement les fonctions de nutrition générale.

J'ai fait des expériences sur des animaux sains, des rats blancs et des lapins, auxquels je donnais à manger à satiété. Les animaux étaient pesés tous les jours et quand le poids restait constant, je leur faisais faire des inhalations d'igazol, pendant trois heures par jour, en préparant l'atmosphère avec les mêmes proportions, comme on procède pour l'homme.

Voici les résultats obtenus :

Rats blancs.

JOUR	I. POIDS DU CORPS en gr.	II. POIDS DU CORPS en gr.	III. POIDS DU CORPS en gr.
7 Juin	142	107	137
28 »	153	131	154

Lapins.

JOUR	I. POIDS DU CORPS en gr.	II. POIDS DU CORPS en gr.	III. POIDS DU CORPS en gr.	IV. POIDS DU CORPS en gr.
28 Juin	1950	1731	1510	2070
2 Juillet	1952	1750	1550	2150
5 »	2020	1820	1625	2200
8 »	2050	1870	1760	2260
10 »	2060	1871	1760	2260
12 »	2062	1869	1761	2261

L'augmentation du poids est donc considérable, elle s'obtient rapidement, c'est-à-dire après dix jours environ.

En calculant par kilogramme d'animal on trouve chez les rats une augmentation maximum de 110,38 gr. par kilogramme, et chez les lapins 142,50 gr. par kilogramme.



Fig. I. — Homme : Courbe respiratoire normale.



Fig. II. — Pendant les inhalations d'igazol.



Fig. III. — Chien · Courbe respiratoire normale.



Fig. IV. — Pendant les inhalations d'igazol.

En même temps on remarque une augmentation dans le chiffre de l'hémoglobine, laquelle, mesurée avec l'hémomètre de Fleischl, donne une différence en plus de 7 chez le lapin I, de 10 chez le lapin II et IV, de 8 chez le lapin III.

Les fonctions respiratoires subissent des modifications importantes. J'ai fait des expériences sur l'homme et sur des chiens.

On mesure la fréquence respiratoire d'abord dans les conditions normales et ensuite pendant le séjour dans l'atmosphère igazolée. Les résultats obtenus montrent que la fréquence respiratoire subit au commencement une légère diminution, de 5 respirations au maximum, et dans la suite une augmentation, qui atteint quelquefois le chiffre normal. Parfois cette diminution n'a pas lieu, ou bien elle est très faible.

Si au lieu de faire habituer graduellement l'individu à l'atmosphère igazolée, comme on a procédé précédemment, on le fait entrer subitement dans cette atmosphère, on obtient presque les mêmes résultats.

Les modifications des excursions respiratoires sont encore plus importantes.

La fig. I représente la courbe respiratoire prise sur l'homme avant les inhalations et la fig. II, celle prise pendant les inhalations.

Les fig. III et IV sont prises sur le chien dans les mêmes conditions.

On aperçoit de suite que les excursions du thorax se font aussi plus larges, soit 2 à 4 fois plus grandes que les normales. Cette plus grande dilatation persiste pendant toute la durée des inhalations.

En même temps que les modifications mentionnées on obtient aussi une action sédative sur la fonction respiratoire. Cela est démontré en mesurant le temps pendant lequel un individu, ayant le nez et la bouche fermés, peut rester sans respirer. Ce temps, après les premières 15 minutes, diminue de 5 à 8 secondes, mais après, commence à augmenter jusqu'à atteindre la normale et même la surpasser de 10 secondes.

Il résulte de ces expériences que l'igazol diminue un peu la fréquence respiratoire, fait augmenter sensiblement l'amplitude du thorax et agit, en outre, comme sédatif de l'innervation de la fonction respiratoire. Ces modifications nous expliquent le soulagement que les phtisiques éprouvent pendant les inhalations. Ils accomplissent une véritable gymnastique pulmonaire tandis que la toux, aussi bien que l'accélération respiratoire, viennent s'apaiser.

On sait par les expériences faites d'abord par VIERORDT et J. LUDWIG, et ensuite par MAREY, que l'amplitude de la courbe respiratoire est proportionnelle au volume de l'air mis en mouvement par la respiration, c'est-à-dire que les mouvements externes de la respiration ont une intensité proportionnelle à la quantité d'air que le thorax aspire et expire. Nous pouvons en conclure que les inhalations d'igazol augmentent la ventilation pulmonaire.

Ce résultat n'est pas sans intérêt dans le traitement de la tuberculose pulmonaire.

Maintenant il s'agit de connaître si, à cette plus grande introduction d'air, correspond une plus grande fixation d'oxygène. A ce sujet j'ai fait les expériences suivantes :

Un rat blanc est introduit dans une cloche hermétiquement close par un bouchon de caoutchouc, traversé par un tube de verre qui porte à son extrémité un tube de caoutchouc fermé par une pince. La cloche a une capacité de 10312 c.c., de sorte que l'animal peut y demeurer longtemps sans éprouver aucune souffrance.

Après un séjour de deux à trois heures on met la cloche en communication avec l'appareil de HEMPEL et on mesure la pourcentage d'oxygène et d'anhydride carbonique. Ensuite on porte la cloche, après avoir renouvelé l'air, dans la chambre préparée avec les vapeurs d'igazol qu'on fait pénétrer en insufflant, au moyen d'un soufflet, l'air de la chambre, de sorte que dans la cloche l'atmosphère est igazolée dans les mêmes proportions que celle de la chambre. Après cela le rat est de nouveau introduit dans la cloche pour y demeurer le même temps qu'auparavant. On fait alors une seconde détermination de pourcentage d'oxygène et d'anhydride carbonique dans la cloche.

L'expérience est donc faite de la manière la plus simple en reproduisant à peu près les mêmes conditions dans lesquelles se trouve le phtisique qui est soumis à ma méthode.

Pour chaque expérience on mesure d'abord la proportion de l'oxygène de l'air atmosphérique de la chambre où l'on travaille. L'anhydride carbonique est en si faible quantité qu'on ne peut pas la doser.

L'expérience disposée comme je viens de le dire, permet de connaître la quantité d'oxygène, consommée par le rat dans la première période et celle absorbée dans la seconde période pendant les inhalations.

Je transcris quelques expériences faites :

I. Rat blanc de 143 gr. Après un séjour de 2 h. 40' dans l'atmosphère normale, on trouve dans la cloche 13,06 % d'oxygène et 6,48 % d'anhydride carbonique; après le même séjour dans l'atmosphère igazolée on trouve 12,24 % d'oxygène et 7,28 % d'anhydride carbonique.

Le calcul fait en grammes par heure et par kilogramme d'animal, donne les chiffres suivants :

O fixé dans l'atmosphère normale	=	0,253 gr.
» » » » igazolée	=	0,282 »
Diff.	+	0,029 »

CO_2 éliminé dans l'atmosphère normale = 0,311 gr.
» » » » igazolée = 0,355 »
Diff. + 0,044 »

II. Le même rat. Après un séjour de trois heures dans l'atmosphère normale on trouve 12,53 % d'oxygène et 6,69 % d'anhydride carbonique; après le même séjour dans l'atmosphère igazolée on trouve 11,52 % d'oxygène et 8,98 % d'anhydride carbonique.

Le calcul fait en grammes par heure et par kilogramme d'animal, donne les chiffres suivants :

O fixé dans l'atmosphère normale = 0,272 gr.
» » » » igazolée = 0,308 »
Diff. + 0,036 »

CO_2 éliminé dans l'atmosphère normale = 0,326 gr.
» » » » igazolée = 0,436 »
Diff. + 0,110 »

En comparant ces chiffres on aperçoit que lors de la respiration dans une atmosphère igazolée une plus grande quantité d'oxygène est fixée et une plus grande partie d'anhydride carbonique est éliminée.

Sous l'influence de l'igazol, à la plus grande quantité d'air qui pénètre dans le thorax, correspond donc une plus vive hématose.

Cette accélération de l'échange gazeux s'accomplit sous l'influence de l'igazol, non seulement par le sang en circulation, mais encore par le sang hors de l'organisme et par les tissus organiques.

Cela est démontré par les expériences suivantes : On introduit dans deux flacons de capacité égale deux quantités égales de sang défibriné, ou de muscles ou de morceaux de grenouilles; les deux flacons sont bouchés.

Le premier contient de l'air atmosphérique, l'autre des vapeurs d'igazol qu'on a fait pénétrer à l'aide d'un soufflet comme on a procédé pour la cloche. Après quelques heures on mesure, à l'aide de l'appareil de HEMPEL le pourcentage d'oxygène et d'anhydride carbonique contenu dans chaque flacon.

De ces expériences résulte que par chaque litre de sang de bœuf défibriné, l'absorption d'oxygène pendant une heure dans l'atmosphère igazolée est plus grande de 0,380 gr. et l'élimination d'anhydride carbonique est plus grande de 0,250 gr.

Des morceaux de grenouille donnent en plus 0,810 gr. pour l'oxygène et 1,720 gr. pour l'anhydride carbonique.

Je crois donc avoir démontré que l'igazol excite les tissus organiques à fixer et à consommer des quantités d'oxygène plus grandes que dans les conditions ordinaires. Je crois, par conséquent, pouvoir en conclure qu'il s'agit d'une action oxydante très énergique exercée par l'igazol.

Cette oxydation qui s'accomplit dans le sang n'altère nullement les caractères de l'hémoglobine. Quand on fait traverser le sang par des vapeurs d'igazol, il acquiert une coloration rouge plus vive, qu'il conserve même pendant quelques jours durant lesquels il résiste à la putréfaction.

Si le sang est veineux il devient bientôt artériel.

Quand on examine au spectroscope le sang même fortement igazolé, on remarque que les bandes d'absorption de l'hémoglobine sont inaltérées.

L'action de l'aldéhyde formique sur l'hémoglobine a été mise en relief par Tollens. Lorsqu'on ajoute au sang qui contient l'aldéhyde formique du sulfure d'ammoniaque et qu'on chauffe légèrement, les deux bandes de l'hémoglobine vont graduellement disparaître et il se forme entre elles une troisième bande très marquée, celle de l'hémoglobine réduite. Si on agite ensuite avec de l'air, cette bande disparaît et les deux premières réapparaissent.

Ces phénomènes se répètent sur le même sang toutes les fois qu'on recommence à les réchauffer ou à l'agiter.

Cela signifie, selon moi, que l'aldéhyde formique opère sur le sang successivement des réductions et des oxydations. Mais je ne m'arrête pas, pour le moment, sur ce sujet auquel je reviendrai lorsque j'aurai terminé mes expériences sur la propriété oxydante de l'aldéhyde formique, mais dès maintenant on comprend bien le rôle important que joue cette propriété oxydante dans le traitement de la phtisie pulmonaire.

Bien que mes recherches ne soient pas encore terminées, je crois cependant que si les faits, trouvés jusqu'à présent, n'arrivent pas à expliquer tout le mécanisme par lequel agissent les inhalations d'igazol, ils montrent déjà la puissante action qu'elles exercent sur l'organisme.

Palerme, 30 juillet 1901.

Aus dem Institute für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock (Director Prof. R. Kobert).

Ein Beitrag zur Kenntnis des physiologisch-chemischen und pharmakologischen Verhaltens des kieselsauren Natriums, des Kieselfluornatriums und des Fluornatriums.

VON

Dr Alfred SIEGFRIED.

I. Uebersicht über die vorhandene Litteratur, betreffend das Vorkommen der Kieselsäure.

In seinem Lehrbuche der physiologisch-chemischen Chemie(1) bezeichnet Gustav Bunge *die Kohlensäure und die Kieselsäure als die Grossmächte beim Bau der Erde.* Beide liegen mit wechselnden Siegen und Niederlagen in ewigem Kampfe. Beide Säuren suchen sich gegenseitig aus ihren Verbindungen zu drängen. Wir wissen, dass die Erdrinde unseres Planeten fast ausschliesslich aus Verbindungen der Kohlensäure und der Kieselsäure mit Kalk, Magnesia, Alkalien u. s. w. besteht. Je nachdem nun die Kieselsäure oder die Kohlensäure die Oberhand gewinnt, verdrängt sie den Gegner und setzt sich an dessen Platz, indem sie sich mit den freiwerdenden Basenresten vereinigt. Die Kräfte beider Gegner sind aber ungleich bemessen, je nachdem die Wärme oder die Kälte in den Kampf mit eingreifen. Hitzegrade, wie sie im Innern der

(1) Bunge : Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie, 1887, p. 19. Die späteren Auflagen enthalten dieselbe Angabe.

Erde bestehen, sichern der Kieselsäure den Sieg, in der Kälte aber gewinnt die Kohlensäure die Oberhand, und da die Erde allmählich erkaltet, so ist auch damit der definitive Sieg der Kohlensäure über die Kieselsäure prädestiniert. Im Erdinnern aber verdrängt die Kieselsäure vorläufig noch die Kohlensäure, die in unzähligen Quellwässern suspendiert und als Gas direkt aus vielen Erdspalten und Vulkanen an die Oberfläche tritt. Aber an der Erdoberfläche ist, wie erwähnt, die Kieselsäure der unterliegende Teil; dort beherrscht die Kohlensäure das Feld, und die Kieselsäure lagert sich, aus ihren Verbindungen getrieben, als Thon und Sandstein in mächtigen Gebirgen und Erdschichten ab. « Jede Meereswoge, sagt Bunge, die am Felsen brandet, jede Welle, die das Kieselgestein des Flussbettes bespült, jeder Regentropfen, der zur Erde fällt, sie stehen mit der Kohlensäure im ewigen Bunde. Sie zersetzen langsam, aber sicher auch das härteste Kieselgestein. Sobald es der Kohlensäure gelingt, über die Kieselsäure einen vollgültigen Sieg zu erringen, muss alles organische Leben auf unserm Planeten erlöschen. »

Es versteht sich nach alledem von selbst, dass ein so verbreiteter Körper, wie die Kieselsäure, auch einen grossen Einfluss ausüben müsste auf alles organische Leben. Nicht nur für die Lebewelt des Festlandes darf das gelten, sondern auch für die des Weltmeeres, dessen Wasser ebenfalls Kieselsäure in Lösung enthält(1). Es müsste fast als Wunder erscheinen, wenn die Kieselsäure nicht spurweise wenigstens in den organischen Kreislauf mit überginge. Und das ist denn auch der Fall. *Wir finden die Kieselsäure in allen drei Reichen vor, im Mineral-, Pflanzen und Tierreiche.*

Sprechen wir zunächst vom **Mineralreich.** Ueber den Anteil der Kieselsäure am Aufbau der Erdrinde habe ich mich schon oben geäussert. Hier seien nur noch Einzelheiten erwähnt. Am bekanntesten dürfte die Kieselsäure in ihrer reinsten Form schon von altersher sein, nämlich als Quarz im Bergkrystall, als Tridymit und als Feuerstein. Unter den Edelsteinen und Halbedelsteinen vornehmlich behauptet sie einen gewichtigen Platz. Sie liefert uns den weinklaren Topas und den decenten, in zarten Lichteffecten prangenden Opal. Unter den Halbedelsteinen der Kieselsäure sind bekannt der Rauchtopas, das Katzenauge, der Jaspis, Chalcedon, Achat u. s. w. In vielen heissen Quellen setzt sich die Kieselsäure ab als Kieselsinter oder Geyserit, so z. B. in Island, im Yellowstone-Gebiet, in Neuseeland. Die gewaltigen Massen der Absätze von etwa 7000 Quellen

(1) Malys Jahresbericht der Tierchemie, Band **21**, 1891, p. 308.

des Nationalparkes in Nordamerika bestehen fast nur aus Kieselsäure. Interessant ist auch die Verkieselung von Hölzern und Tieren, die aber immer nur in schwefelsäurehaltigen Quellen vor sich geht(1).

Was nun das Vorkommen der Kieselsäure im **Pflanzenreiche** betrifft, so sind alle höheren Pflanzen als kieselsäurehaltig anzusprechen(2). Nach Gorup-Besanez ist die Entwickelung einer Pflanze abhängig mittelbar von einem Medium, das ausser Phosphor, Kali u. s. w. auch Kieselsäure in einer assimilierbaren Form enthält. In besonders reicher Menge ist die Kieselsäure nachgewiesen in den Halmen der *Gräser*, besonders der *Riedgräser* und in den *Schachtelhalmen*, die gerade deshalb als Scheuerkraut Verwendung finden. Bezüglich des *Bambusrohres* ist noch die Thatsache interessant, dass Kieselabscheidungen in ihm seit uralter Zeit in der Medizin der Inder, Perser und Araber eine grosse Rolle gespielt haben unter dem Namen *Tabaschir*. Es handelt sich beim Tabaschir um Kieselsäureablagerungen in Klumpenform an den Knoten des Halmes von Bambusa arundinacea Willd. und von Bambusa verticillata Willd. Nebenbei können diese Bambusarten auch eine Zuckerart (Bambusmanna) enthalten. Siehe darüber Weiteres bei David Hooper(3). Auch das *spanische Rohr* enthält viel Kieselsäure. Als besonders reich an Kieselsäure sind auch die *Körner der Getreidearten* anzusehen, sowie das *Stroh derselben*(4). Auf hundert Teile der Asche berechnet findet man(5), was *Nahrungs-* und *Genusspflanzen* anlangt, in Roggen (Körner) 1,37, Roggen (Stroh) 49,27, Erbsen (Samen) 0,91, Erbsen (Stroh) 6,83, Kartoffelknolle 2,04, Weintraube 2,75, Kaffeebohnen 5,04, Theeblätter 0,54, Tabak 5,77. Die *Baumwollenfaser* enthält 2,40 der Asche an SiO_2, die Asche des *Fichtenholzes* 2,73 SiO_2. Ueber den Kieselsäuregehalt der Asche einiger *Medicinalpflanzen* orientiert die nachfolgende von A. B. Griffith(6) der Pariser Akademie der Wissenschaften kürzlich unterbreitete Tabelle.

(1) Dammer : Anorganische Chemie, II, 1, 1894, p. 484.

(2) Gorup-Besanez : Lehrbuch der physiologischen Chemie, 3. Auflage, 1867, p. 14. E. Schmidt : Pharmaceutische Chemie, 3. Auflage, Bd. I, 1892, p. 457.

(3) Hooper : Pharmaceutical Journal, 1900, 16 june, p. 640.

(4) Schmidt : Pharmaceutische Chemie, 3. Auflage, Bd. I, 1892, p. 112.

(5) Strassburger : Lehrbuch der Botanik, 2. Auflage, 1895, p. 147.

(6) Pharmac. Ztg, 1900, Nr 81, p. 789.

	Sarsaparilla	Hydrastis	Cardamom	Eiche	Ratanhia	Belladonna
Eisenoxyd	2,0	1,2	1,2	2,40	4,3	2,2
Kupferoxyd.	—	—	—	0,05	—	—
Manganoxyd	0,2	0,4	4,3	0,10	0,2	0,3
Kali	26,4	12,0	20,4	14,00	15,0	20,0
Natron	10,5	26,0	8,6	9,12	9,4	14,0
Kalk	6,6	10,4	18,0	30,02	20,6	12,3
Magnesia	4,2	5,1	9,4	12,01	10,3	8,6
Kieselsäure	**32,5**	**23,1**	**11,0**	**15,30**	**27,7**	**26,0**
Phosphorsäure	12,3	17,0	20,1	13,08	8,1	9,2
Schwefelsäure	2,7	3,6	4,8	2,61	2,0	5,1
Thonerde	0,1	—	0,1	0,13	0,1	—
Chlor.	2,5	1,2	2,0	1,18	2,1	2,0

Von Griffith wurden ausserdem in der Asche der Eiche und der Ratanhia Spuren von Chrom, Vanadium und Molybdän gefunden. Mangan fand sich in allen Pflanzenaschen, welche überhaupt geprüft wurden. Für *Bakterien* ist die Kieselsäure zum Mindesten nicht giftig, denn zur Züchtung derselben empfiehlt KÜHNE (1) geradezu als Nährboden Kieselsäuregallerte, welche sich nach seinen Versuchen gut bewährte. Die Kieselsäure ist in allen Fällen aus der wässerigen Lösung darzustellen, die man in folgender Weise erhält : Natronwasserglas wird unter beständigen Schwenken in einen Ueberschuss verdünnter Salzsäure gegossen und in Schlauchdialysoren, die in fliessendem Wasser hängen, sowohl von der freien Salzsäure, als auch von dem gebildeten Chlornatrium befreit. Die reine wässerige ·Lösung der Kieselsäure wird, am besten in einer Platinschale direct über der Flamme, in mässigem Kochen erhalten, concentrirt, während man die am Rande sich ausscheidende feste Säure fortbläst. Die Lösung wird am besten bis zum ersten Entstehen eines Häutchens in der Platinschale erhitzt, worauf sie am Aräometer das spec. Gewicht 1,62 zu zeigen pflegt und in filtrirten Proben nach dem Abdampfen und Glühen 3,4 Proc. wasserfreier Säure hinterlässt. Die Lösung von 3,4 Proc. kann beliebig gekocht werden, auch mit Alkohol in jedem Verhältnisse gemischt und erwärmt werden, ohne sich zu trüben oder zu coaguliren, während sie durch manche neutrale Salze, unter denen das Chlornatrium besonders interessirt, in einer mit der Menge des Zusatzes und dem Steigen der Temperatur abnehmenden Zeit erstarrt.

Um die Kieselsäure für Culturen geeignet zu machen, bedarf sie des

(1) Zeitschrift für Biologie, Bd. **27**, 1890, p. 172. Ich entnehme das Referat der Chemikerzeitung.

Zusatzes von Nährstoffen; am einfachsten dient dazu Fleischextract. 4 c.c. der 3,4-proc. Kieselsäure werden mit 0,5 bis 1,0 c.c. der Extractlösung (ein bohnengrosses Klümpchen des LIEBIG'schen Präparates) in 25 c.c. Wasser gelöst, versetzt und gekocht; es tritt sehr langsam Erstarrung ein, rascher nach Zusatz von wenig Kochsalz. Das zweckmässigste Verfahren, die Mischung vor der Gerinnung zu sterilisieren, besteht darin, die Lösungen erst getrennt gründlich zu sieden, sie dann in dem angegebenen Verhältnisse zusammenzugiessen und noch einmal kurz aufzukochen. Die vollkommenste Sterilisirung wird bekanntlich durch Ueberhitzen erzielt, und dies ist auf die Kieselsäure anwendbar. Das Ueberhitzen muss man in Gefässen von Blei vornehmen, aus denen die Säure nichts aufnimmt. Die sterilisirte Kieselsäure mit einer ebenfalls überhitzten kochsalzhaltigen Fleischextractlösung versetzt und im Züchtungsröhrchen noch einmal aufgekocht, coagulirt vortrefflich. Die entstehende Gallerte ist von zweckmässigster Consistenz, durchsichtig wie Glas, und durch Fleischextract kaum gelblich gefärbt.

Die Kieselsäuregallerte verträgt auch den Zusatz und das Kochen mit manchen organischen Stoffen, z. B. mit Zucker, Glycerin, Deuteroalbumose, Peptonen und Alkalialbuminat, aber nicht mit Leim. Die Mischungen mit den organischen Stoffen können zur Herstellung des Nährbodens ebenso mit Fleischextract versetzt werden, wie die reine Kieselsäure. Ein Vortheil der in Kieselsäure angekommenen Culturen liegt darin, dass man sie, in dünnen Stückchen der Gallerte eingefangen, nicht nur bequem mikroskopisch untersuchen, sondern auch in dem fixirten Zustande weiteren chemischen Behandlungen unterwerfen kann.

Einprocentige Kalilauge löst diese Gallerte in der Kälte sehr langsam, Salzsäure von 5 Proc. noch weniger; in gesättigter Kochsalzlösung wird sie nicht opak, von absolutem Alkohol schwach getrübt. Geschützt müssen die Präparate nur werden vor dem Eintrocknen, wodurch die Gallerte zu Pulver zerfällt, dem man erfolgreich vorbeugt durch Zusetzen von etwas Glycerin vor dem Gelatiniren. — Gewisse *einzellige Algen*, die *Diatomeen*, umgeben sich sogar mit einem Kieselsäurepanzer(1). Interessant ist die Angabe, dass man Diatomeenschilder in dem auf Kieselguhrerde gewachsenen Weizen vorfand, woraus zu schliessen ist, dass Kieselsäure unter Umständen ungelöst d. h. in kleinen festen Partikeln von der Pflanze aufgenommen werden kann(2).

---

(1) BUNGE : l. c., p. 26.

(2) DAMMER : Anorganische Chemie, Bd. II, Teil 1, 1894, p. 484.

Tierreich. Mit der Pflanzennahrung gelangt die Kieselsäure in den Körper der Tiere und Menschen, der daher immer Kieselsäure enthält. Die Kieselsäure wird vom *Darm* aus resorbiert und durchwandert sämtliche Gewebe. Geringe Spuren lassen sich daher in allen Organen nachweisen (1), und auch im *Blute* aller Tiere kreist die Kieselsäure (2). In den *Harn* der Pflanzenfresser geht sie in erheblicher Menge über, ja sie bildet bei Schafen zuweilen Blasensteine (3); auch in denen von Menschen hat man Spuren von Kieselsäure gefunden (4). Von ganz besonderer Bedeutung scheint die Kieselsäure jedoch für die Entwickelung der *Haare* und die der *Federn* zu sein, deren Asche stets reich daran ist, bis zu 1,27 % der Asche (5). Nach HAMMARSTEN (6) enthalten die Haare unter 100 Teilen Asche bis 40 Teile Kieselsäure. Nach KUNKEL (7) beträgt der Kieselsäuregehalt der menschlichen Haare ziemlich constant 0,1 % des Gewichtes frischer Haare. Im frühesten Alter ist etwas weniger Kieselsäure vorhanden. Braune Haare sind besonders reich an Kieselsäure. Ziemlich erschöpfend behandelt

ALTER	ART	FARBE	% Gehalt der Asche an SiO_2
Neugeborner	Kopfhaare	hellblond	0,083
»	»	dunkelblond	0,103
2jähr. Mensch	»	blond	0,115
15 » »	»	braun	0,184
17 » »	»	»	0,151
18 » »	»	»	0,152
35 » »	Barthaare	rot	0,093
59 » »	Kopfhaare	dunkelbraun	0,233
63 » »	»	grau	0,100
65 » »	»	»	0,098
65 » »	Barthaare	»	0,142

(1) HAMMARSTEN : Lehrbuch der physiolog. Chemie, 2. Aufl., 1891, p. 249.

(2) BUNGE : l. c., p. 27.

(3) GORUP-BESANEZ : Physiolog. Chemie, 1867, p. 111.

(4) NEUMEISTER : Lehrbuch der physiolog. Chemie, 2. Aufl., 1897, p. 493 und 738. HAMMARSTEN : Lehrbuch der physiolog. Chemie, 2. Aufl., 1891, p. 321.

(5) KALL : *Die Kieselsäure in tierischen und menschlichen Organismen.* Inaugural-Diss., Würzburg, 1898, p. 6.

(6) HAMMARSTEN : Lehrbuch der physiol. Chemie, 1891, p. 269. Vergl. auch GORUP-BESANEZ : Physiol. Chemie, 1867, p. 111; MALY's Jahresbericht, Bd. **27**, 1897, p. 87; HENNEBERG : Landwirtsch. Annalen, Bd. **61**, p. 255.

(7) HAMMARSTEN : Lehrbuch d. physiol. Chemie, 4. Aufl., 1899, p. 535; siehe auch MALY's Jahresbericht, Bd. **28**, 1898, p. 483, und ibid. Bd. **29**, 1899, p. 88.

FRIEDRICH KALL(1) in seiner Inaugural-Dissertation diesen Gegenstand. Vorstehend siehe seine Tabelle.

Man entnimmt ihr, dass die Kieselsäure, da sie in den Haaren der Neugeborenen schon enthalten ist, also durch das Blut der Mutter schon im intrauterinen Leben dem Kinde zugeführt werden muss, weiter, dass mit der Ausbildung des Individuums der Kieselsäuregehalt der Haare prozentisch reicher wird und schliesslich die schon erwähnte Thatsache, dass der Kieselsäuregehalt mit der Haarfarbe variiert.

Dass die *Kristalllinse* des Auges SiO_2 enthält, hat kürzlich H. SCHULZ(2) bewiesen. Nach ihm *ist die Kieselsäure ein Begleiter des Bindegewebes.*

Auch im Pankreas sind besonders reichliche Mengen von Kieselsäure aufgefunden worden, so dass man die Vermutung ausgesprochen hat, die Kieselsäure sei in ihm ebenso aufgestapelt für das Bedürfnis des ganzen Körpers, wie das Eisen in der Leber und das Jod in der Schilddrüse. KALL(3) hat sich mit diesem Gegenstande eingehend befasst, indem er das Pankreas einer Reihe von Tieren und Menschen auf seinen Kieselsäuregehalt untersuchte. Um den Embryonen in der Vogelwelt schon das zum Aufbau der Federn notwendige Kieselsäurematerial zur Verfügung zu stellen, findet sich diese schon im Ei(4) und zwar sowohl im *Eigelb* wie auch im *Eiweiss* und ausserdem auch in der *Eierschale*(5). HAMMARSTEN bemisst die Menge der Kieselsäure des Eidotters, für 1000 Teile Asche berechnet, auf 5,5—14,0, die des Eiweisses auf 2,8—20,4 Teile. Nachgewiesen ist die Kieselsäure weiter noch in den *Schuppen der Schmetterlinge*(6) und in den *Stacheln der Igel* und schliesslich von den Blutarten im *Blute der Vögel*(7) und im *Rindsblute*(8). Dass man in den *Exkrementen* von Schweinen, Kühen, Schafen und Pferden Kieselsäure fand, ist bei diesen Tieren als Pflanzenfressern nicht überraschend. Weiter ist erwähnenswert, dass die Kieselsäure als Kieselfluornatrium im *Kalbshirn* und in der *Kuhmilch* nachgewiesen wurde(9); auch in der *Rindsgalle* fand man sie(10).

---

(1) KALL : *Die Kieselsäure in tierischen und menschlichen Organismen.* Inaugural-Diss., Würzburg, 1898, p. 6.

(2) Pflüger's Arch., Bd. **84**, 1901, p. 67.

(3) KALL : l. c., p. 19.

(4) HAMMARSTEN : Lehrbuch der physiol. Chemie, 2. Aufl., 1891, p. 246 und p. 728.

(5) Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. **12**, 1888, p. 324.

(6) E. SCHMIDT : Pharmaceutische Chemie, 3. Aufl., 1892, Bd. 1, p. 460.

(7) DAMMER : Anorganische Chemie, Bd. II, 1894, p. 485.

(8) Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. **12**, 1888, p. 325.

(9) GORUP-BESANEZ : Physiolog. Chemie, 1867, p. 609.

(10) MENDELEJEFF : Grundlagen der Chemie, 1892, p. 480.

Nicht unerwähnt mag bleiben, dass die grossen *Kieselguhrlager* bei Berlin und in der Lüneburger Heide als *Rückstand der Verwesung von Infusorien* aufzufassen sind, die sich bei Lebzeiten mit einem Kieselsäurepanzer umgaben (1).

Zum Schluss möchte ich noch auf eine Tabelle von GORUP-BESANEZ (2) verweisen, nach der in Bezug auf ihren Kieselsäuregehalt die Nahrungsmittel folgende absteigende Reihe zeigen : Die Körnernahrung enthält 40 Aschenprozente, das *Fleisch der Säugetiere* 27 Aschenprozente, Beeren 27 Aschenprozente und der *Körper der Fische* 10,5 Aschenprozente von SiO_2.

Die Pathologen dürfte die Thatsache interessieren, dass man in den *Hautschuppen* von Patienten mit Ichthyosis und Pellagra bemerkbare Mengen von Kieselsäure nachgewiesen hat.

II. Ueber die Wirkung der im Kieselfluornatrium steckenden Komponenten und ihr Verhalten im physiologisch-chemischen Sinne und in therapeutischer Hinsicht.

1. BETREFFS DER KIESELSÄURE UND DES KIESELFLUORNATRIUMS.

So sehr verbreitet und fast allgegenwärtig die Kieselsäure zu sein scheint, so gering ist verhältnismässig die Litteratur, die uns über ihre Beziehung zum tierischen Organismus und ihren Wert für denselben aufklärt.

Die ersten physiologischen Versuche über die Einwirkung der Kieselsäure auf Tiere verdanken wir RABUTEAU und PAPILLON (3). Sie konstatierten das Ausbleiben der Fäulnis an defibriniertem Ochsenblute innerhalb 8 Tagen bei Zusatz von 1—3 % kieselsaurem Natrium, von welchem eine konzentrierte Lösung sowohl Blut als Eiterkörperchen etwa in einer Stunde aufzulösen vermag, wie es auch Vibrionen und Bakterien auflöst. 1 % kieselsaures Natrium faulem Eiter zugesetzt, machte diesen geruchlos und erhielt ihn 10 Tage hindurch unverändert; dasselbe Verhalten zeigten Galle und Hühnereiweiss. Senfpapier in verdünnte Lösung von Natrium silicicum getaucht, verlor seine hautrötende Wirkung, auch beseitigte das Mittel die durch Senf bereits entstandene Dermatitis. Traubenzuckergährung wurde duch kleine Mengen desselben 8 Tage verzögert, trat aber dann ein. Die mit dem kieselsauren Natrium angestellten therapeutischen Versuche sind folgende : DUBREUIL beseitigte

(1) DAMMER : Handbuch der anorganischen Chemie, II, 1, 1894, p. 484.
(2) GORUP-BESANEZ : Physiologische Chemie, 1867, p. 608.
(3) VIRCHOW-HIRSCH : Jahresbericht für 1872, Bd. I, p. 352.

durch Einspritzung einer 1/2 %igen Lösung in die Blase die Folgezustände von chronischer Prostatahypertrophie und Paralysis vesicae; MARC SÉE und GONTIER fanden, dass das Präparat bei Urethritis blennorrhoica und Balanitis mit oder ohne specifische Geschwüre die Absonderung aufhebe und die Vernarbung befördere. Die interne Anwendung des Natrium silicicum ist nach den Tierversuchen von RABUTEAU und PAPILLON nicht indiciert, da 1—2 gr. Hunden in das Blut injiciert, dieselben in 5—10 Tagen töten, wobei die Sektion Verfettung der Nieren und Abstossung des Epithels der Tubuli konstatierte. In die Blase injiciert, vernichtet es die Eiterkügelchen schon bei Anwendung von 0,5 % kieselsaurem Natrium in Wasser. Auch PICOT bestätigte die antifermentativen Eigenschaften des Natrium silicicum, denn wenn es ihm auch nicht gelang, die Traubenzuckergährung durch Zusatz von 3—4 % des Salzes völlig zu verhindern, so trat sie doch viel später auf, und der Einfluss von Bierhefe auf Milchzucker, sowie die gewöhnliche Milchsäuregährung wurden schon durch 1 % vernichtet, und durch noch geringere Mengen stark verzögert. Die ammoniakalische und putride Gährung des Urins konnten PICOT wie RABUTEAU und PAPILLON durch 2 % aufheben, die Fäulnis von 50 c.c. Blut durch 0,1 gr. auf 4 Wochen aufhalten. Die Zuckerbildung in der Leber getöteter Tiere wird ebenfalls durch Natrium silicicum aufgehoben. Auch PICOT heilte wiederholt purulente Urethritis bei Frauen mit Einspritzungen von Natriumsilicatlösungen. Weiter veröffentlichte CHAMPOUILLON (1) kurze Zeit später Mitteilungen über die antifermentative Wirkung des kieselsauren Natriums, die im Grossen und Ganzen obige Angabe von RABUTEAU und PAPILLON bestätigen. Nach CHAMPOUILLON wird fötider Eiter durch kieselsaures Natrium coaguliert und geruchlos. Konzentrierte Lösungen töten die die Ansteckung von Krankheiten vermittelnden Mikrophyten und Mikrozoën und fällen Pflanzenschleim, Gummi, Schleim und Eiweiss in organischen Flüssigkeiten. Als Topicum schützt die Lösung des Salzes die Oberfläche von Wunden gegen die Resorption, gegen die Aufnahme mephitischer Stoffe aus der Umgebung, bessert Eiterungen von schlechter Beschaffenheit und neutralisiert das ansteckende Agens der Hautdiphteritis in überfüllten Krankensälen. Injectionen beseitigen bei Ozaena den Geruch und vermindern die Masse des Ausflusses, stehen aber dem übermangansauren Kalium nach. Vermindernd auf die Schleimabsonderung wirkt das Mittel auch bei chronischer Blennorrhoe, und inhaliert auch bei Bronchorrhoe, am vorzüglichsten aber

(1) VIRCHOW-HIRSCH: Jahresbericht für 1893, Bd. I, p. 371.

wirkt es bei Cystitis chronica catarrhalis, purulenta oder hæmorrhagica, wo es die Zersetzung des Secretes und des Urins verhindert. Frische Blasenkatarrhe finden stets Heilung durch das Mittel, das indessen wegen seiner coagulierenden Wirkung konzentrierter Lösungen auf den Blasenschleim in verdünnter Lösung zu geben ist.

Diese Untersuchungen regten PICOT(1) zu seinen weiteren Experimenten an. PICOT liess die Kieselsäure auf verschiedenen Wegen auf den Organismus einwirken : 1) durch die Verdauungswege, 2) subcutan, 3) durch intravenöse Injection. Dann studierte er weiter ihre Einwirkung auf eine künstlich im tierischen Organismus durch intravenöse Einspritzung von Glycose und Bierhefe hervorgerufene Gährung und schliesslich suchte er den Einfluss der Kieselsäure auf eine experimentell erzeugte Septicämie zu eruieren. Zu diesem letzten Zwecke führte er die Kieselsäure wieder subcutan und durch die Verdauungswege dem erkrankten Körper zu. Am Schlusse seiner interessanten Versuche kommt PICOT zu folgendem Ergebnis, das ich hier im Wortlaute wiedergebe :

« Auf welchem Wege man die Kieselsäure auch dem Organismus zuführen mag, immer ist sie eine energisch wirkende Substanz. Bei einer Dosis von 1,0 gr. tötet sie Kaninchen immer, denen man sie giebt. Die Haupterscheinungen, die sie hervorruft, ist die Neigung zur Asphyxie, als deren Ursache man die Zerstörung der roten Blutkörperchen ansehen darf. Sie erzeugt Fieber und, wenn sie durch die Verdauungswege eindringt, Diarrhoe.

Die Kieselsäure hat keinen Einfluss auf künstliche Septicämie, mag man das Tier nun vor der Injection putrider Stoffe mit Kieselsäure sättigen, oder mag man das Salz im Augenblick der Injection auf irgend sonst einem Wege absorbieren lassen, oder mag man es schliesslich in mehrmaligen Gaben einem mit putriden Injectionen vergifteten Tiere applicieren. Der Tod tritt in gleicher Weise ein, die gleichen symptomatischen Erscheinungen zeigen sich, und die Autopsie ergiebt dieselben Läsionen.

Was hier nun überrascht, ist, dass ein Salz, von dem man annimmt, es verhindere die Fäulnis ausserhalb des Körpers, ohne Einfluss auf die Septicämie ist, die doch jetzt von einer ziemlich grossen Zahl Gelehrter als eine wirkliche faulige Gährung des Blutes angesehen wird.

Meine septicämischen Versuche haben mir Thatsachen an die Hand gegeben, die mit den herrschenden Theorien nicht im Einklang stehen. »

Soweit PICOT. Wir werden später sehen, dass wir heutzutage anders urteilen müssen.

In physiologischer Hinsicht ist eine wissenschaftliche Fehde für uns von Interesse zwischen WILDT, damals Leiter der landwirtschaftlichen

(1) Comptes rendus de l'académie des sciences. Tome **76**, 1873, p. 99—103.

Versuchsstation in Posen, und Professor WILCKENS in Wien, die sich schliesslich bis zu ziemlicher Heftigkeit zuspitzte Ein Streitpunkt ist in dieser Polemik *die Assimilierbarkeit der Kieselsäure im Verdauungskanal.* WILDT bestimmt aus dem Verhältnis der in den einzelnen Abschnitten des Verdauungstractus sich noch befindenden Massen und dem Kieselsäuregehalt derselben die Menge der in den einzelnen Mägen der Wiederkäuer resorbierten Futtermengen, indem er die Ansicht vertrat, dass die Kieselsäure vom Darm aus nicht resorbiert werde. Aus dem Defizit, das im Verhältnis der Kieselsäure im Rohfutter zu diesem besteht und dem sich bei der Untersuchung der einzelnen Futtermassen in den verschiedenen Darmabschnitten zu diesen (den Futtermassen) ergebenden Verhältnis der in ihnen enthaltenen Kieselsäuremengen könnte man dann leicht, wenn diese als konstant gelten dürften, den Verlust an verdautem Futter berechnen(1). WILCKENS bestreitet diese Annahme der Nichtassimilierbarkeit der Kieselsäure durch den Darm, zum mindesten hält er sie für nicht erwiesen (2).

Bezüglich der *antiseptischen und antifermentativen Wirkung des Natrium silicicum* liegt eine Dissertationsarbeit von LÖWENHAUPT(3) vor. Nach einer Einleitung, die uns in übersichtlicher Weise eine kurze Zusammenstellung vieles dessen giebt, was über die antibacterielle Wirkung des Natrium silicicum innerhalb und ausserhalb des Organismus zu sagen ist, über die antifermentative Wirkung desselben, seinen physiologischen und therapeutischen Wert, kommt LÖWENHAUPT nach einer Reihe von 13 Versuchen zu dem Resultat, dass *das käufliche Natrium silicicum nicht an sich fäulniswidrig wirke, sondern nur durch den Gehalt an Natriumhydroxyd,* das in seinen Lösungen von kieselsaurem Natron vorhanden war. Auch die gährungswidrige Eigenschaft der Kieselsäure setzt er bis zu 4 % Gehalt der Lösung an kieselsaurem Natron auf seinen Gehalt an Natriumhydroxyd. Darüber hinaus, sagt LÖWENHAUPT, hemmt die reine Kieselsäure allerdings die Hefegährung. Mit der Annahme, dass das freie Natriumhydroxyd das wirksame Agens sei, sucht LÖWENHAUPT auch den Widerspruch zwischen den Versuchen französischer Forscher, die schon bei geringeren Konzentrationen als er Erfolg hatten, und den seinigen zu erklären, indem er

(1) WILDT : *Ueber die Resorption und Sekretion der Nahrungsbestandteile im Verdauungskanale des Schafes.* Göttinger Journal für Landwirtschaft, 1874, Heft 1.

(2) Zeitschrift für Biologie, Bd. **14**, 1878, p. 293 u. 415, Bd. **15**, 1879, p. 203 u. 348. SCHMIDT's Jahrbücher der gesamten Medizin, Bd. **179**. 1878, p. 131.

(3) LÖWENHAUPT : *Die fäulnis- und gährungswidrige Wirkung des Natrium silicicum*, Dissert., 1889, Greifswald.

annimmt, dass in dem von ihnen benutzten kieselsauren Natron sich mehr Natriumhydroxyd befunden habe, als in dem seinigen.

Auch HUSEMANN(1) schreibt die Wirkung des kieselsauren Natriums auf Bakterien seinem Gehalt an freiem Alkali zu.

Bezüglich *der antiseptischen Wirkung des Kieselfluornatriums* hat BERENS Versuche veröffentlicht, die hier in Kürze wiedergegeben seien(2). Er fand, dass eine Lösung von 1 : 1000 noch stark genug sei, um einen Fleischaufguss wochenlang unzersetzt zu erhalten. Er fand ferner, dass man eine Lösung von 0,6 gr. auf 120 gr. Wasser selbst bei leerem Magen ohne alle Unzuträglichkeit mehrmals des Tages wiederholt, eine Woche hindurch nehmen kann. Kieselfluornatrium hob bei 1 : 750 die Alkoholgährung völlig auf und verlangsamte sie bei 1 : 1050 auf einige Zeit. Ein Meerschweinchen, dem 0,033 gr. Kieselfluornatrium in warmer gesättigter Lösung in den Magen gespritzt worden war, zeigte bald Uebelbefinden, hohe Aufgetriebenheit des Leibes und starb nach 55 Minuten. Ein anderes, das 0,02 gr. bekommen hatte, befand sich am anderen Tage wohl. BERENS nahm selbst 0,05 gr. Kieselfluornatrium nach einer Mahlzeit, und fühlte zwar die erste Stunde nichts, dann aber mehrere Stunden hindurch Uebelkeit und Ructus. Der Puls wurde verlangsamt, seine Spannung vermindert, doch waren am nächsten Tage alle diese Erscheinungen verschwunden. Bei drei andern Personen trat ganz die nämliche Wirkung ein. BERENS glaubt auf Grund dieser Versuche wenigstens vor der inneren Anwendung des Kieselfluornatriums warnen zu müssen.

Ist nun die literarische Ausbeute über die Physiologie und die antiseptische Wirkung der Kieselsäure schon gering, so ist das noch ungleich mehr der Fall betreffs ihres sonstigen therapeutischen Wertes.

Eine eigentümliche Mitteilung macht uns FAWCETT BATTYE in London(3). Er will durch Darreichung von *Kieselsäure bei Krebs und Diabetes* günstige Effekte insofern erzielt haben, als nach längerem Gebrauch von täglich 1 × 1,0 gr. bei ersterem Linderung der Schmerzen und in einzelnen Fällen Verkleinerung der Geschwülste, bei letzterem Feuchterwerden der Haut, Abnahme des nächtlichen Urindranges und Besserung des Allgemeinbefindens sich einstellt. BATTYE weist auch auf die angeblich vorzügliche Wirkung des Bethesdawassers von WANKESKA in Wiskonsin und

---

(1) HUSEMANN : Handbuch der Arzneimittellehre, 2. Aufl., 1892, p. 187.

(2) BERENS : Therap. Gaz., 1888, p. 443. Referiert : SCHMIDT's Jahrbücher der gesamten Medizin, Bd. **218**, p. 27.

(3) Edinb. med. Journal, XX, 5, p. 420, Novb. 1874. SCHMIDT's Jahrbücher der gesamten Medizin, Bd. **189**, p. 134. VIRCHOW-HIRSCH : Jahresbericht für 1847, p. 455.

der Missisquoi Springs von FRANKLIN in Vermont hin, welche dieselben bei Krebs und Diabetes, ausserdem bei *Albuminurie* entfalten und dem auffallend starken Gehalt an Kieselsäure verdanken sollen. Kieselsaures Kali hatte bei Diabetes nicht die günstigen Effekte, wie die Kieselsäure, die BATTYE in Trochisken darreichte.

Da wir seit den nach Veröffentlichung dieser allgemeinen Angaben verflossenen 19 Jahren keine Bestätigung derselben vorfinden, so dürfen wir sie wohl füglich als ad acta gelegt denken.

Zu weiterer Verwendung von kieselsaurem Natron in innerlicher Applikation werden als Indikationen angegeben(1): *Gicht* und *harnsaure Diathese* (kieselsaures Natron soll hier « steinlösendes » Mittel sein) und chronische ulceröse Diarrhoe(2)). Äusserlich findet kieselsaures Natron Anwendung in 1/2 °/₀iger Lösung bei *chronischer Cystitis, Urethritis, Balanitis, Ozaena* (1, 2 u. 3), *Gonorrhoe* (2), *Fluor albus* (1 u. 2) und als *hustenlösendes Mittel* zu 0,25—0,5 gr. in starker Verdünnung(1), ausserdem bei *Bienenstich, Verbrennung ersten Grades, Zoster, Erysipelas* (1 u. 3). Schliesslich verwendet man Liquor natrii silicici auch technisch *zur Herstellung fester Verbände,* die den grossen Vorzug haben, dass sie nicht durchfeuchtet werden, ferner auch um Gypsverbände wasserdicht zu machen(1, 2 u. 3). Endlich hat man Liquor natrii silicici auch zu *Verbandwässern* und *Bähungen* benützt(2).

Betreffs des *Kieselfluornatriums* als Heilmittel ist nur kurz zu berichten, dass es unter dem Namen *Salufér* wie Sublimat *zum Wundverband* dienen soll. Auch als *Gurgelwasser* wird es empfohlen. THOMSON(4) lobte das Kieselfluornatrium im Jahre 1888 als ein mächtiges und dabei ganz unschädliches *Antisepticum* und von ROTSON wurde es in vielen chirurgischen Fällen, besonders da, wo man eine Resorption des Sublimates zu fürchten hatte, mit Erfolg angewandt. Demgegenüber erklärt BOKENHAM (1890) das Kieselfluornatrium für giftig, selbst, wenn es nur innerlich eingenommen werde.

Eine kurze Zusammenfassung der physiologischen und therapeutischen Bedeutung des kieselsauren Natrons und des Kieselfluornatriums giebt uns STOKVIS(5). Ich lasse bei der Wichtigkeit, die das Urteil eines so

(1) LIEBREICH und LANGGAARD : Compendium der Arzneiverordnung, 2. Aufl., 1887, p. 475.

(2) EWALD : Handbuch der allg. u. speciellen Arzneiverordnungslehre, 11. Aufl., 1887, p. 475.

(3) HUSEMANN : Handbuch der Arzneimittellehre, 2. Aufl., 1892, p. 187.

(4) SCHMIDT's Jahrbücher d. gesamten Medizin, Bd. **228**, p. 227.

(5) STOKVIS : Leçons de Pharmacothérapie, Tome I, 1896, p. 282/83.

erfahrenen Pharmakotherapeuten für uns haben muss, seine Äusserungen hier wörtlich folgen :

« Das kieselsaure Natron wurde im Jahre 1872 von RABUTEAU als Antisepticum bezeichnet. RABUTEAU konstatierte, dass dieses Salz die Entwickelung der Vibrionen und Bakterien verhindern könne. Aber die Erfahrung zeigte ihm, dass dieses Heilmittel innerlich oder in die Venen injiciert ein heftiges Gift vorstelle. Bei 1,0 gr. pro kgr. Tier hat es den Tod des zum Versuch verwandten Tieres zur Folge. Bei der Autopsie konstatiert man eine fettige Degeneration der Leber und eine tiefgehende Veränderung der roten Blutkörperchen. Die Untersuchungen RABUTEAU's bestimmten einige seiner französischen Kollegen, sich einer Lösung von kieselsaurem Natron 1 : 200 zu bedienen zu Blasenausspülungen bei Cystitis purulenta und einer Lösung von 1—3 : 100 bei Gonorrhoe, Balanitis, Prostatitis und schliesslich bei Ozaena, jener Ihnen bekannten septischen Entzündung der Nasenschleimhaut. Die Resultate, die sie erhielten und zusammenstellten, waren sehr befriedigend. Trotzdem gelang es dem Mittel nicht, sich in die Praxis einzuführen und in den letzten Jahren hat es weder Verherrlicher noch Feinde gefunden. Somit glaube ich das Richtige zu treffen, wenn ich Ihnen sage, dass dieses Heilmittel ohne Pauken und Trompeten zu Grabe getragen wurde. »

Vom Kieselfluornatrium berichtet STOKVIS an ebenderselben Stelle :

« In gleicher Weise hat man die Verbindung des Fluors und der Kieselsäure unter einander und diejenige des Fluors mit anderen Atomgruppen in die Reihe der antiseptischen Mittel aufgenommen, sei es, dass man ihnen eine weniger ausgesprochene giftige Wirkung zuschrieb. Ich nenne an erster Stelle das Kieselfluornatrium, das besonders seiner Unschädlichkeit wegen von THOMSON zu antiseptischen Wundverbänden in Lösungen von 1 : 800—1000 gerühmt worden ist. Aber wie schon die Untersuchungen von TAPPEINER argwöhnen liessen, und wie BOKENHAM zeigte, ist dieser Körper nichts weniger als indifferent. Ausserdem scheint er nicht mit antiseptischen Tugenden in dem Masse begabt zu sein, wie man glaubte, wenigstens nicht den Rotlaufbazillen gegenüber. »

Zum Schluss fügt STOKVIS seinen Auslassungen über die Kieselsäure, das Kieselfluornatrium und das Fluorkalium noch hinzu :

« Nur um vollständig zu sein, meine Herren, citiere ich alle diese Neuigkeiten, und ich füge hinzu, sehen Sie sie an, aber lassen Sie sich das genügen. Und in der That, bis jetzt haben alle diese Medicamente nur ein Recht auf einfache Erwähnung. Diejenigen, die ihnen therapeutische Vorzüge zuschreiben, denen man in der Praxis trauen könne, setzen, sei es nun im guten Glauben oder aus Liebe zur Reklame, ihren Ruf als nicht voreingenommene oder unparteiische Beobachter aufs Spiel. »

Bezüglich der *Giftwirkung des kieselsauren Natrons* ist noch eine ganz neue Notiz bemerkenswert, die die PICOT'schen Angaben unterstützt. Der angesehenste Pharmakolog Österreichs, Hofrat Ritter v. VOGL(1), glaubt

(1) BERNATZIK-VOGL : Lehrbuch der Arzneimittellehre, hsgbn. von VOGL. Wien. 1900, p, 393.

nämlich noch jetzt, das 1,0—2,0 gr. kieselsaures Natron bei 6—7 kilogr. schweren Hunden den Tod in 5—10 Tagen herbeiführe. Auch PICOT berichtet, dass 1 gr. kieselsaures Natrium, innerlich gegeben, Kaninchen tötet. v. VOGL injicierte Hunden intravenös 0,7—1 gr. kieselsaures Natrium mit dem Erfolge, dass diese starben. Die gleiche Dosis gab auch schon PICOT als giftig an. 0,5 bis 0,75 gr. kieselsaures Natrium erzeugt nach VOGL innerlich dargereicht, Mangel an Fresslust, Diarrhoe, Zunahme der Temperatur und Athmungsfrequenz und nach 5—8 Stunden Tod (ebenso bei PICOT) unter Erscheinungen von Gastroënteritis; subcutan erfolgt er schon nach 0,5 gr. (PICOT 1873). Post mortem : Nierenverfettung und Abschilferung des Epithels der Harnkanälchen (RABUTEAU und PAPILLON 1872). Dagegen bemerkt schon 1893 KOBERT, er habe die Versuche von PICOT wiederholt und gefunden, dass diese Angaben auf ungeschickter Versuchsordnung beruhen. Per os wirken nämlich nach KOBERT Dosen von 0,5—1,0 gr. des neutralen Salzes garnicht und bei vorsichtiger intravenöser Applikation das schwach alkalische sehr verdünnte Salz ebenfalls nicht giftig(1) bei Hunden.

Eine Reihe bekannter und angesehener deutscher Pharmakologen enthalten in ihren Werken über unser Mittel so gut wie nichts, nämlich : BINZ, SCHMIEDEBERG, TAPPEINER, CLOËTTA-FILEHNE(2).

Unsere pharmako-therapeutische Uebersicht zeigt, dass die *Ansichten über die Wirkungen der Kieselsäure und ihrer Verbindungen in den letzten 25 Jahren sehr geschwankt haben und noch jetzt keineswegs geklärt sind, da ein so ausgezeichneter Gelehrter, wie* A. v. VOGL *von Neuem für die Giftigkeit auch der fluorfreien Verbindungen der Kieselsäure eintritt,* die von anderen ebenso entschieden in Abrede gestellt wird. Gerade deshalb dürften meine eigenen Versuche nicht überflüssig sein. Dass die Fluorverbindungen giftig wirken können, soll uns im Nachstehenden noch beschäftigen.

2. UEBER DIE WIRKUNG DES FLUORNATRIUMS UND SEIN VERHALTEN IM PHYSIOLOGISCH-CHEMISCHEN SINNE UND IN THERAPEUTISCHER HINSICHT.

Da wir uns im Verlaufe unserer Versuche veranlasst sehen, uns, wenn auch nur wenig, mit dem Fluornatrium zu befassen, so halte ich folgende kurze auf sie bezügliche Notizen für angebracht.

---

(1) KOBERT : Lehrbuch der Intoxicationen, 1893, p. 301.

(2) BINZ : Vorlesungen über Pharmakologie, 2. Aufl., 1891. SCHMIEDEBERG : Grundriss der Arzneimittellehre, 1883. TAPPEINER : Lehrbuch der Arzneimittellehre und Verordnungslehre, 2. Aufl., 1895. CLOËTTA-FILEHNE : Lehrbuch der Arzneimittellehre und Verordnungslehre.

Zunächst ist uns die *antiseptische Wirkung des Fluornatriums* bekannt, die ihm eine Rolle in der Gährtechnik anweist(1). Fluornatrium tötet in 1 °/₀iger Lösung alle lebenden Zellen und hebt die Gährungen auf, die an das Leben derselben gebunden sind, während es die durch Enzyme, das heisst lösliche Fermente, verursachten Gährungen nicht beeinträchtigt. Das Fluornatrium verhindert selbst bei 40—50°C. das Eintreten der Fäulnis. Es konserviert Milch, Blut, Urin, Galle, Organe, Früchte u. s. w. Der Gehalt an Zucker und Harnstoff in den so sterilisierten Flüssigkeiten bleibt unverändert. Die Milchsäuregährung wird schon durch 4 °/°igen Fluornatriumgehalt aufgehoben, die alkoholische durch 0,3 °/₀. Allerdings kann man gewisse Heferassen einigermassen an Fluornatrium gewöhnen, das heisst relativ immun machen. Die Gährungen durch lösliche Fermente: Invertin, Trypsin, Emulsin, Pepsin, Diastase, der Leber, des Pankreas und des Blutes, werden durch Fluornatrium nicht beeinflusst, die Enzyme halten sich darin monatelang unverändert. Die Oxydationen im defibrinierten Blute werden durch dasselbe aufgehoben(2). Weiter sind die Versuche von Brandl und Tappeiner ungemein interessant, die einen Hund täglich 9 Monate hindurch vorsichtig mit Fluornatrium fütterten (0,01—0,10 pro kilogr.) und nachwiesen dass *das gereichte Fluornatrium sich im Organismus des Hundes zu 98,1 °/₀ in Skelett, Blut, Muskeln, Leber, Haut und Zähnen ablagerte*(3). An Vergiftungserscheinungen beobachten obige Autoren nur eine steife Haltung des Rückgrades. A. G. Bloxam(4) fand, dass mit Fluornatrium konservierter Salm dem Menschen schädlich ist. Er verzehrte ein Stück desselben selbst und bekam Durchfall, Erbrechen und Speichelfluss, mehrere Stunden anhaltend. Eine Analyse des Fisches ergab, dass das verzehrte Fleischstück etwa 5,5 gr. Fluornatrium enthalten hatte. In einem andern Versuche gab Bloxam 1,0 gr. Fluornatrium als solches einem seiner Freunde, der sich dazu erbot. Die Wirkungen bestanden in « völlig gehemmter Verdauung », starker Salivation, Kopfschmerz, Uebelkeit. Bloxam *verwirft daher aufs Entschiedenste die Verwendung des Fluornatriums zu Brauereizwecken und Konservierungszwecken für Fleisch.* Die Chemikerzeitung bemerkt dazu, dass leider das letztere Verfahren unter Patentschutz gestellt

(1) Kobert : Lehrbuch der Pharmakotherapie, 1897, p. 206. Lafar : Technik der Mykologie, Bd. I, 1897, p. 225.

(2) Maly's Jahresbericht, Bd. **22**, 1893, p. 417 und Bd. **23**, 1894, p. 640.

(3) Zeitschr. f. Biologie, Bd. **28**, 1892, p. 518. Ref. in Münch. med. Wochenschr. 1892, Nr 23.

(4) Chem.-Ztg, 1893. Originalmitteilung.

worden ist. Nach GIUSEPPE PISOTTI(1) wird Fluornatrium von verschiedenen Tiergattungen in 2 °/₀iger Lösung *bei allmählicher Verabfolgung selbst in grossen Dosen gut vertragen,* so dass anatomische Veränderungen nicht eintreten. Bei *plötzlicher* Verabfolgung grosser Dosen dagegen kommt es zu *Nierendegeneration, Leberverfettung und Hyperämie der Nervencentra.* Nach Fluorkaliumgebrauch will WEDDEL(2) eine *Vermehrung der Harnstoffausscheidung* an sich und zwei anderen Personen wahrgenommen haben.

Das Fluornatrium coaguliert nach KOBERT Eiweiss nicht, aber *Nerven und Muskeln des Frosches sterben* in Lösungen desselben. Die *Cornea* wird durch Fluornatrium bei längerer Einwirkung getrübt. Zu 0,5 : 15 Wasser *Hunden* in den Magen gebracht, erzeugt es *Erbrechen.* Der Tod der Warmblüter erfolgt durch *Lähmung der Athmung.* Stupor und Schwäche sind hauptsächlich als Folge der *Lähmung des Gefässcentrums* anzusehen. Nach Einnehmen von 0,25 gr. Fluornatrium in Lösung entstanden *beim Menschen Magenschmerzen, Nausea, Erbrechen, Durchfall,* 1 1/2stündige durch Atropin nicht zu beeinflussende *Salivation* und *Hautjucken.* Nach längerer Fütterung von Hunden mit Fluornatrium werden nach BRANDL und TAPPEINER deren Knochen weiss und weisen an angeschliffenen Flächen eine glitzernde Spiegelung auf. Die Havers'schen Kanäle der kompakten Knochensubstanz und die Lücken der Spongiosa enthalten Würfel und Oktaëder von Fluorcalcium. Betreffs der therapeutischen Wirkung bemerkt KOBERT, dass die Angaben in dieser Hinsicht widersprechend seien, indem nach Berichten aus England ein Arzt durch Fluornatrium vielen Patienten den Magen gründlich verdorben habe, denn die ClH des Magensaftes setzt FlH in Freiheit, während ein anderer seine Patienten nach Fluornatrium gesund werden gesehen haben will. An Stelle des Jodkaliums hat man neuerdings auch die Fluoralkalien zur praktischen Anwendung z. B. bei Ischias, Rheumatismus u. s. w. empfohlen(3). Zum Schluss lasse ich noch die unser Thema fast erschöpfenden Angaben von STOKVIS(4) in wörtlicher Uebersetzung folgen :

« Neben der Flusssäure, deren Wirkung reizend und kaustisch ist, hat man in letzter Zeit (neben anderen) das Fluornatrium als allgemeines Antisepticum und besonders als von antituberkulöser Wirkung herausgestrichen. Schon in geringer Dosis

(1) Bulletino delle Sc. med., 1893, Gennajo.
(2) MALY's Jahresbericht, Bd. 14, 1884, p. 206.
(3) HARNACK : Lehrbuch der Arzneimittellehre und Verordnungslehre, 1893, p. 838.
(4) STOKVIS : Leçons de Pharmacothérapie, Tome I, 1896, p. 283.

beeinträchtigt Fluornatrium die Entwickelung einer Kultur von Tuberkelbacillen und tötet die cellulären Elemente, ohne dem nackten Auge sichtbare Veränderungen hervorzurufen. Eine ganze Reihe von Versuchen, die Tappeiner in München angestellt hat, haben aber ergeben, dass das Fluornatrium in grösserer Dose für kalt- und warmblütige Tiere ein heftiges Gift darstellt. Es tötet nacheinander das Centralnervensystem, die motorischen Nervenendigungen, es ruft Schläfrigkeit und Schwäche hervor, *lähmt das vasomotorische Centrum, erzeugt Konvulsionen* von einer je nach der Art des Tieres sehr verschiedenen Intensität, die in keinem Falle als asphyctische Konvulsionen aufgefasst werden können. Ausserdem erzeugt es bei den höheren Tieren infolge Erregung des Brechcentrums Erbrechen, Beschleunigung und Stillstand der Athmung und eine Vermehrung der Speichel- und Thränensekretion. Bei allen Tieren, die der Vergiftung durch Fluornatrium erlagen, stellte sich die Leichenstarre schneller ein als normalerweise. Somit ist es klar, dass *die Fluorverbindungen die Tuberkelbacillen im Körper eines Phthisikers nicht töten können, ohne sein Leben in Gefahr zu setzen.* Indessen ist es nicht unmöglich, dass Fluornatrium in Lösung 1 : 1000 oder 1500 ein *gutes Wundwasser* repräsentiert. Innerlich eingenommen haben sich die Fluorverbindungen nicht giftig erwiesen, wie bei äusserer Anwendung (Brandl), vielleicht, weil sie nur *schwer resorbierbar* sind. Aber bislang fehlen uns genaue Untersuchungen, die die Unschädlichkeit des Zusatzes kleiner Dosen von Fluornatrium zu unserer Nahrung klar beweisen, eines Zusatzes, den man in letzter Zeit als konservierend für unsere Nahrungsmittel gepriesen hat (Martinotti, Neumann-Wender). »

Endlich möchte ich in chemischer Hinsicht noch auf die erschöpfende Monographie des Fluors und aller seiner Verbindungen von Moissan (1) hinweisen, die neuerdings erschienen ist.

III. Wie gelangt die Kieselsäure in den pflanzlichen Organismus und welchen Zwecken dient sie hier?

Noch völlig unbekannt ist, ob die Kieselsäure irgendwie sich am Stoffwechsel in der Pflanze beteiligt, oder ob sie nur ausgeschieden wird, indem sie sich aus dem aufgenommenen Silikat freimacht, oder indem die Pflanze die lösliche Form der Kieselsäure in die unlösliche überführt (2). Der Möglichkeiten des Eindringens der Kieselsäure in die Pflanze giebt es nun mehrere.

Zunächst ist bekannt, dass die Alkalisalze der Kieselsäure in Wasser löslich sind. Es kann somit die Kieselsäure zunächst als kieselsaures Natron oder Kalium in den pflanzlichen Organismus übergehen.

Weiter bietet sich der Kieselsäure ein Weg : Die Wurzeln der Pflanzen sondern ein saures Sekret ab. Da nun im Ackerboden Fluor in den häufig sich findenden Apatitnadeln enthalten ist, so muss in der Nähe

(1) Henri Moissan : *Das Fluor und seine Verbindungen.* Deutsch von Zettel, 1900.
(2) Pfeffer : Pflanzenphysiologie, Bd. I, 1897, p. 430.

der Wurzel eine Apatitlösung mit der immer im Ueberschuss vorhandenen Kieselsäure kieselfluorwasserstoffsaure Salze bilden, die in Wasser löslich sind(1). Weiter wissen wir, dass wenn die freie Kieselsäure durch die Kohlensäure aus gewissen Silikaten verdrängt wird, sie als Säurehydrat in einer scheinbar gelösten, sogenannten kolloiden Modifikation auftritt, in der sie genügend Gelegenheit hat, in die Pflanze überzugehen(2).

Schliesslich kommt auch Spaltpilzen die Fähigkeit zu, Kieselsäure in lösliche Form überzuführen(3).

Verweisen möchte ich auch noch einmal auf die schon im vorigen Kapitel erwähnte Thatsache, dass man ganze Diatomeenschilder in auf Kieselguhrerde gewachsenem Weizen gefunden hat. Kieselsäure könnte demnach also auch unverändert von der Pflanze aufgenommen werden. Auch WILSON(4) ist der Ansicht, dass Kieselsäure unverändert aus dem Boden von der Pflanze (Weizenstroh) assimiliert worden ist.

Ebenso wie in Bezug auf die erste Frage dieses Kapitels sind wir auch bezüglich der zweiten nur mehr oder weniger auf Vermutungen angewiesen. *Eine hohe Bedeutung scheint die Kieselsäure für das Pflanzenleben jedenfalls nicht zu haben,* das beweisen schon die Versuche von SACHS(5), dem es gelang, in kieselsäurefreier Nährlösung eine Maispflanze zu ziehen, die nur 0,7 % Kieselsäure enthielt, während sich normalerweise in der Asche 18 bis 23 % finden. Auch durch viele andere Versuche(6) ist dargethan, dass auch andere Getreidearten ohne Kieselsäure gedeihen können. Gelang es doch JODIN eine normale Maispflanze zu ziehen, nachdem er durch 4 Generationen hindurch keine Kieselsäure geboten hatte.

Der Wert der Kieselsäure für die Pflanze scheint mehr mechanischer Natur zu sein : durch Einlagerung der Kieselsäure in die Pflanzenwandung scheint deren Resistenzkraft und Tragfähigkeit bedeutend vermehrt zu werden. Weiter wird durch die vermehrte Härte der Wandungen dem Tierfrass in gewissem Grade vorgebeugt, und schliesslich scheint die Pflanze wegen der Anwesenheit der Kieselsäure mit geringeren Mengen der notwendigen Aschenbestandteile auszukommen(7).

---

(1) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. **12**, 1888, p. 325.
(2) BUNGE : Lehrbuch der physiolog. u. patholog. Chemie, 1887, p. 26.
(3) Zeitschrift f. physiolog. Chemie, Bd. **11**, 1887, p. 568.
(4) STAEDEL : Jahresbericht der reinen Chemie, 4. Jahrgang, 1872, p. 39.
(5) SACHS : Flora, 1862, p. 52.
(6) PFEFFER : Pflanzenphysiologie, Bd. I, 1897, p. 429.
(7) Ibidem, p. 430.

IV. Die wichtigsten Methoden des Nachweises der Kieselsäure.

Ich bemerke im Voraus, dass die oben (p. 235) erwähnte Arbeit von H. SCHULZ noch nicht erschienen war, als meine Dissertation bereits gedruckt vorlag.

Zu unsern Versuchen bedienten wir uns eines aus der Fabrik von E. MERCK in Darmstadt bezogenen Präparates von Natrium silicicum purissimum crystallisatum und Natrium silico-fluoratum.

Das Experimentieren mit einer Lösung von kieselsaurem Natron zeigt gewisse Schwierigkeiten. Die Lösungen halten sich sehr schlecht und das selbst in geringen Konzentrationen von 5 %, wie wir sie bei unsern Versuchen vielfach verwandten. In höheren Konzentrationen waren die Lösungen äusserst unbeständig, sie nahmen nach wenigen Tagen ein opakes Aussehen an und zeigten eine Menge feiner in der Flüssigkeit suspendierter fester Gebilde von mir unbekannter Zusammensetzung.

Eine weitere Schwierigkeit liegt in der Beseitigung der hohen Alkalescenz obiger Körper, die uns bei unsern physiologischen Versuchen stören und irre leiten muss. Zwar ist diese durch Säurezusatz leicht zu eliminieren, aber mit abnehmender Alkalescenz der Versuchslösungen wächst wieder die Gefahr des Ausfallens der Kieselsäure. Um nun diese Möglichkeit auf das geringste Mass ohne Beeinträchtigung unserer Versuche hinabzudrücken, stumpften wir unsere Lösungen soweit ab, dass sie nur noch äusserst wenig alkalisch blieben. Von einem völligen Neutralisieren sahen wir nach reiflicher Ueberlegung ab.

Der Nachweis der Kieselsäure stösst auch auf mannigfache Schwierigkeiten, insofern als wir kein Reagenz besitzen, das es uns ermöglichte, die Kieselsäure in Gemischen qualitativ direct nachzuweisen. Vielmehr sind wir gezwungen, durch mannigfache Manipulationen uns die Kieselsäure erst zugänglich zu machen. Der Arten des Nachweises giebt es nun mehrere. Ich führe die von mir benutzten an.

1. NACHWEIS DER KIESELSÄURE DURCH GLÜHEN UND EINDAMPFEN.

Man verasche und ziehe die Asche mit Salzsäure aus, dampfe wieder ein, glühe u. s. w. Es bleibt eine zuletzt in Salzsäure unlösliche weisse Masse zurück, die aber in Natrium- oder Kaliumhydroxyd wohl noch löslich ist. Diese weisse Masse ist die Kieselsäure. Dieser Art des Nachweises haben wir uns recht wenig bedient, da sie grössere Mengen von Substanz verlangt, als die anderen Untersuchungsarten, und auch mehr Zeit erfordert. Sie kommt aber für zweifelhafte Fälle unbedingt in Frage.

2. Nachweis der Kieselsäure mittels der Phosphorsalzperle.

Die klare Phosphorsalzperle nimmt, wenn man ihr im geschmolzenen flüssigen Zustande Kieselsäure zuführt, beim Erkalten eine opake Färbung an und lässt ein sogenanntes Kieselsäureskelett in ihrem Innern erkennen. Von Interesse ist für diese Methode eine Notiz von Haushofer und Hirschwald(1). Haushofer behandelt wesentlich die Unterschiede in der Angreifbarkeit der Silikate durch schmelzendes Phosphorsalz : « Eine Anzahl von Silikaten wird, als Splitter in die Perle gebracht, so zerlegt, dass, wenn eine gewisse Hitze erreicht ist, ein plötzliches Anschwellen, eine Auflockerung und Zerteilung stattfindet, worauf die zurückbleibenden Teilchen sich wieder sammeln und endlich zu einer oft nur sehr kleinen und zarten, durchscheinenden Kieselsäureflocke zusammenschwinden. Oft findet hierbei eine lebhafte Gasentwickelung statt. Viele andere Silikate werden erst bei längerem Erhitzen an den Kanten durchscheinend und bilden ganz allmählich ein Kieselskelett mit den äusseren Formen des ursprünglichen Splitters. Auch diese Erscheinung kann von einer Gasentwickelung begleitet sein. Schliesslich giebt es noch eine dritte Gruppe von Silikaten, welche in der Phosphorsalzperle keine erheblichen Veränderungen erleiden. » Ueber die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens sagt Haushofer : « Das plötzliche Anschwellen und Zerteilen in der Phosphorsalzperle, wie die Gasentwickelung, scheint darauf zu beruhen, dass an der Zusammensetzung solcher Mineralien Elemente oder Elementgruppen teilnehmen, welche, indem sie bei der erreichten Temperaturerhöhung gasförmig werden, den atomistischen Verband des Silikates sprengen und dadurch seine Zersetzung durch die Phosphorsäure zu einer rasch verlaufenden Reaktion machen. » Es lässt sich somit aus dem Verhalten in der Phosphorsalzperle ein Schluss auf das Vorhandensein solcher Bestandteile ziehen, die zur Gasbildung Anlass geben könnten, z. B. Chlor, Fluor, Kohlensäure, Wasser. Bei letzterem lässt sich so unter Umständen entscheiden, ob es als Krystallwasser, oder als sogenanntes Konstitutionswasser vorhanden ist. Der Verfasser führt eine Reihe von Beispielen an, bei welchen das Verhalten in der Phosphorsalzperle charakteristisch ist und sich in der eben angeführten Weise erklären lässt. Hirschwald geht ebenfalls von dem verschiedenartigen Verhalten der Silikate im Phosphorsalzglase aus und giebt ausser den oben angeführten Arten des Verhaltens, wobei sich entweder ein « Kieselskelett », oder eine « Kieselflocke » bildet, noch eine weitere, die

(1) Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. **29**, 1890. p. 319.

vollständige Auflösung in der Perle, an. Er hebt hervor, dass Kieselsäure namentlich als feines Pulver in mässiger Menge sich in der Phosphorsalzperle völlig klar löst, und dass auch alle Silikate in Form eines feinen Pulvers in mehr oder weniger grosser Menge unter Umständen von dem Phosphorsalz klar gelöst werden können. Die Auflösung der Kieselsäure geht unter Bildung von kieselphosphorsauren Verbindungen vor sich, und der Verfasser neigt sich deshalb der Ansicht zu, dass die « Kieselskelette » und « Kieselflocken » keineswegs nur aus Kieselsäure beständen, sondern einfach die in der Perle nicht löslichen Reste des Silikates darstellen. Die durchscheinende Beschaffenheit des Skelettes erklärt sich aus dem vor dem Mikroskope deutlich zu beobachtenden ungleichmässigen Zernagen und Zerfressen des Mineralsplitters, während Kieselflocken entstehen, wenn das Mineral pulverig angewandt wird und sich die zurückbleibenden Reste zu einem Agglomerate zusammenziehen (1).

Zu beachten ist bei dieser Art des Nachweises weiter, dass Kalksalze in der Phosphorsalzperle eine voluminöse, dicke weisse Färbung entstehen lassen, die indes nie von der Zartheit des Kieselsäureskelettes ist. Bei einiger Uebung kann man sich jedoch leicht vor Irrtümern schützen, namentlich, wenn man niemals nur nach einer Methode den Nachweis führt.

3. NACHWEIS DER KIESELSÄURE MITTELS DES REAGENZES VON JOLLES UND NEURATH.

JOLLES und NEURATH (2) geben eine colorimetrische Methode der Kieselsäurebestimmung an. Sie beruht darauf, dass bei Gegenwart von freier Salpetersäure die Alkalimolybdate mit Kieselsäure Gelbfärbung liefern, besonders beim Erwärmen auf 80°. Unsre Autoren verfahren bei der Prüfung von Quellwasser wie folgt : Sie lösen 1,8 gr. Kaliummolybdat in 50 c.c. Wasser und setzen 50 c.c. Salpetersäure (D. 1,2) zu. 1 c.c. dieses Gemisches färbt 20 c.c. zu prüfenden Quellwassers.

Diese Art des Nachweises der Kieselsäure ist eine relativ bequeme und auch ziemlich genaue. Ein Irrtum ist aber leicht möglich, da auch Phosphorsäure mit dem Reagenz eine gelbe Färbung respektive gelben Niederschlag liefert. Es musste also auf alle Fälle vorher alle Phosphorsäure durch Extraktion des zu prüfenden Aschenrestes mit Salzsäure entfernt worden sein.

---

(1) HAUSHOFER : Sitzungsberichte der mathem. physikal. Klasse der kgl. Akademie der Wissenschaften zu München, 1889, p. 8.

(2) Chemisches Centralblatt, 1898, Bd. I, p. 1064.

RICHTERS(1) sagt von diesem Reagenz, dass nur wenn der Kieselsäuregehalt einer Flüssigkeit gering ist, die bekannte gelbe Farbe nach Zusatz von molybdänsaurem Ammon bei gewöhnlicher Temperatur nicht sogleich, sondern erst nach einiger Zeit eintritt. Beim Erwärmen auf ungefähr 60° erfolgt, falls genug SiO_2 vorhanden ist, ziemlich rasch die Bildung eines Niederschlages. Bei gewöhnlicher Temperatur kann die gelbe Flüssigkeit oft wochenlang und selbst monatelang stehen, ehe die Ausbildung des Niederschlages erfolgt. Es scheint übrigens zur Entstehung des Niederschlages ein sehr geringer Kieselsäuregehalt hinzureichen. Der Niederschlag unterscheidet sich sowohl durch seine physikalische Beschaffenheit, wie durch sein Verhalten gegen Ammon von dem phosphormolybdänsauren Ammon ganz wesentlich. Er ist nicht wie dieses ein schweres Pulver, sondern überzieht gewöhnlich die Wandungen der Gefässe als gelbe fast krystallinisch zu nennende Haut, welche sich beim Reiben mit dem Glasstab leicht loslöst und eine blassgelbe Farbe annimmt. In kaltem, mässig verdünntem Ammon löst er sich nicht wie der Phosphorsäureniederschlag fast augenblicklich, sondern ganz allmählig unter Abscheidung einiger Kieselsäureflocken. Es vergehen oft mehrere Stunden, bis die gelbe Farbe vollständig verschwunden ist.

Wenngleich wir es in unsern Fällen wohl wegen der äusserst geringen Konzentration unserer Kieselsäuremengen nie mit Niederschlägen, sondern immer nur mit Färbungen zu thun hatten, so glaubte ich doch vorstehende Auslassungen im Interesse unseres Themas anführen zu müssen.

4. MIKROCHEMISCHER NACHWEIS DER KIESELSÄURE.

Als letzter Art des Nachweises bedienten wir uns des von BEHRENS(2) angegebenen sehr schönen Verfahrens. BEHRENS schreibt über die Fällung der Kieselsäure als Natriumfluorsilikat folgendes :

« Die auf Kieselsäure zu untersuchende Probe wird in Fluorwasserstoffsäure oder in einer Mischung von Fluorammonium und Salzsäure gelöst. Als Fällungsmittel dient Natriumchlorid, wovon ein Ueberschuss nicht schadet. Natriumfluorsilikat krystallisiert in sechsseitigen Täfelchen und Sternen, welche dem hexagonalen System angehören. Aus weniger verdünnten Lösungen fallen zierliche sechsstrahlige Rosetten aus. Ausnahmsweise werden aus verdünnten Lösungen kleine Rhomboëder erhalten. Alle diese Gebilde haben stark gezogene Umrisse und eine eigentümliche blassrötliche Färbung. »

---

(1) Zeitschrift für analytische Chemie, 1871, p. 471.

(2) BEHRENS : Anleitung zur mikrochemischen Analyse, 1895, p. 93.

Diese Art des Nachweises liefert, falls man rasch verfährt, d. h. nicht etwa das saure Gemisch im Reagensglas länger stehen lässt, schöne unzweideutige Resultate, und sie erscheint aus diesem Grunde wohl am empfehlenswertesten.

Gelingt es uns, wie es bei unsern Experimenten meistens der Fall war, auf zwei oder sogar drei Arten den Nachweis der Kieselsäure zu erbringen, dann dürfen wir wohl sicher sein, nicht zu falschen Resultaten gekommen zu sein.

V. Eigene Versuche über den Nachweis der Kieselsäure.

1. Nachweis ohne vorherige besondere Zufuhr.

Die ersten Versuche bezogen sich auf Harn.

Versuch I. — 150 c.c. normaler Kaninchenharn werden verdampft, der Rückstand verkohlt und schliesslich verascht. In dieser Asche liess sich mit Hülfe der Phosphorsalzperle ein Kieselsäureskelett erzeugen. Den phosphatfreien Aschenrest schmolzen wir unter Glühen mit kohlens. Natron zusammen, um die unlösliche Kieselsäure in lösliche Form überzuführen. Wir lösten dann die Schmelze in Wasser auf unter Zusatz einiger Tropfen Salzsäure und versetzten einen Teil der Flüssigkeit mit dem Reagenz von Jolles und Neurath, dem molybdänsauren Kalium, worauf sich schon in der Kälte die auf Kieselsäure hinweisende Gelbfärbung zeigte. Der Rest der Flüssigkeit wurde mit Fluorammonium in reichlicher Menge und einigen Tropfen Salzsäure versetzt, worauf auch das Mikroskop die charakteristischen sechsseitigen Täfelchen von Natriumfluorsilikat zeigte.

Somit haben wir den Nachweis der Kieselsäure im normalen Kaninchenharn auf 3 Arten erbracht. Dass das Kaninchen kieselsäurehaltigen Harn von sich giebt, ist bei ihm als Pflanzenfresser selbstverständlich.

Versuch II. — Um zu konstatieren, ob auch im normalen Hundeharn, falls das Tier monatelang absolut frei von vegetabilischer Kost nur mit Ochsenpansen gefüttert wird, Kieselsäure vorkommt, verdampften wir 750 c.c. Urin eines so gefütterten Hundes. Der Rückstand wurde verascht, und in ihm zeigte uns die Phosphorsalzperle Kieselsäure. Um uns auch die weiteren Reaktionen auf Kieselsäure zugänglich zu machen, schmolzen wir wieder die Hundeharnasche im Porzellantiegel mit kohlensaurem Natron zusammen. Die Schmelze übergossen wir mit Wasser und einigen Tropfen Salzsäure, bis alles sich löste, dann dampften wir ein, übergossen abermals mit Wasser und einigen Tropfen Salzsäure und dampften wieder ein. Nachdem wir so die vorhandene Kieselsäure unlöslich gemacht hatten, filtrierten wir. Der auf dem Filter verbleibende unlösliche Rückstand musste Kieselsäure sein. Mit diesem Rückstand nun konnten wir in der Phosphorsalzperle abermals Kieselsäure nachweisen. Einen anderen Teil des Rückstandes schmolzen wir mit kohlensaurem Natron ein, um die Kieselsäure wieder löslich zu machen. In der darauf in Wasser gelösten Schmelze konnten wir mit dem Reagenz von Jolles und Neuratha, leicht Kieselsäure nachweisen.

Vorstehendes legt die Vermutung nahe dass unser Hund, da sein Harn eben Kieselsäure enthält, und da er doch seit Monaten nur mit eingeweichtem Ochsenpansen gefüttert worden war, diese Kieselsäure aus dem Ochsenpansen bezogen haben dürfte. (Siehe darüber Versuch V.) Aus dem Trinkwasser kann die Kieselsäure nicht stammen, da dieser Hund nie säuft.

Versuch III. — Um auch normalen Katzenharn auf seinen Kieselsäuregehalt zu untersuchen, dampften wir 120 c.c. Harn einer mit gemischter Kost gefütterten normalen Katze ein und veraschten den Rückstand. In ihm konnten wir mit der Phosphorsalzperle, dem molybdänsauren Kalium und auf mikrochemischem Wege Kieselsäure nachweisen.

Der normale Katzenharn enthält also Kieselsäure.

Versuch IV. — In meinen eigenen eingedampften und veraschten Harne konnte ich gleichfalls auf die drei Arten des Versuches III deutlich Kieselsäure nachweisen.

Ergebnis. — Normaler Kaninchenharn, normaler Hundeharn, selbst wenn das Tier monatelang keine vegetabilische Kost und kein Trinkwasser bekam, normaler Katzenharn und normaler Menschenharn enthalten Kieselsäure.

Einige weitere Versuche bezogen sich auf den Pansen des normalen Rindes.

Versuch V. — Der Umstand, das wir im normalen Hunde- und Katzenharn Kieselsäure fanden (siehe II und III), legte uns die Vermutung nahe, dass in dem in Wasser eingeweichten Rinderpansen, der unsern Versuchstieren zur ausschliesslichen Nahrung diente, die Kieselsäure vorhanden gewesen sein muss. Wir veraschten also einen Teil des Pansens und konnten in der Asche denn auch mit der Phosphorsalzperle Kieselsäure nachweisen. Weiter schmolzen wir die Asche mit kohlensaurem Natron zusammen, lösten die Schmelze in Wasser auf, dem wir einige Tropfen Salzsäure hinzufügten und konnten nun in der so erhaltenen Flüssigkeit wieder mit Hülfe des molybdänsauren Kaliums Kieselsäure nachweisen. Und schliesslich gab uns auch der mikroskopische Weg positives Ergebnis.

Ergebnis. — Es ist der Nachweis erbracht, dass sich im Rinderpansen Kieselsäure findet. Der Einwand, dass die Kieselsäure nur aus dem zum Einweichen benutzten Wasser stamme, ist nicht sehr wahrscheinlich, da die Menge des imbibierten Wassers nur gering war.

Weiter Versuche bezogen sich auf Eidotter und Eiweiss eines normalen Hühnereies.

Versuch VI. — Wir setzten das Eiweiss und ebenso das Eigelb eines normalen Eies zum Verkohlen und weiterhin zum Veraschen auf. Mit der Phosphorsalzperle liessen sich nun recht deutliche Mengen an Kieselsäure im Eiweiss nachweisen, nicht aber ebenso deutlich im Eigelb. Erst später gelang uns auch bei einem zweiten normalen Ei der Nachweis von Kieselsäure im Eigelb. (Vergl. weiter unten.)

Ergebnis. — Die Perlenmethode und die mikrochemische Untersuchung mit Fluorammonium ergab im Eiweiss und Eigelb des zweiten normalen Eies deutlich Kieselsäuregehalt.

Wie steht es nun mit der Kuhmilch? ist sie kieselsäurefrei?

Versuch VII. — Wir veraschten ca 60 c.c. frischer Kuhmilch. Die Phosphorsalzperle wies uns in der Milchasche sehr deutliche Mengen von Kieselsäure nach. Auch der Nachweis mittels des molybdänsauren Kaliums und vornehmlich der mikrochemische Nachweis gelang.

Ergebnis. — Wie im Harn verschiedener Tiere, im Rinderpansen, im Eidotter und im Eiweiss des normaler Hühnereies, so findet sich auch in normaler Kuhmilch Kieselsäure.

2. Nachweis der Kieselsäure nach vorheriger Zufuhr.

Versuch VIII. — Nachdem ein Versuchshund am 3. IV. und 4. IV. morgens je 5 Pillen, deren jede 0,05 gr. kieselsaures Natron enthielt, erhalten hatte, also im Ganzen 0,5 gr. kieselsaures Natron, produzierte er am 4. IV. bis mittags ca 750 c.c. Harn, der ganz normal aussah. Um nun aus diesem die Kieselsäure auszufällen, säuerten wir ihn mit 20 c.c. verdünnter Salzsäure an und überliessen ihn dann sich selbst. In der That gelang es sowohl dieses Mal wie bei allen ferneren Versuchen durch Salzsäure in diesem Harn einen voluminösen, ganz weissen, sehr schwer sich absetzenden Niederschlag, also doch wohl hauptsächlich Kieselsäure, zu erzielen, da im Harn ohne Fütterung von kieselsaurem Natron ein solcher Niederschlag nicht auftritt, und da er sich durch die Glühprobe identifizieren liess.

Ergebnis. — Damit ist die sehr rasche, reichliche Resorbierbarkeit und Wiederausscheidung der als Na-Salz gereichten Kieselsäure beim Hund bewiesen.

Versuch IX. — Nachdem wir unsern Versuchshund vom 2. April bis auf weiteres neben gleichbleibender Kost täglich mit je 5 Pillen zu 0,05 gr. kieselsaures Natron gefüttert hatten, untersuchten wir am 26. April den Harn unseres Hundes vom 7. April, der seitdem mit Schwefelsäure übersättigt gestanden hatte und einen gallertigen Bodensatz zeigte. Zunächst setzten wir den Harn auf ein Wasserbad, um zu sehen, ob sich der Bodensatz zusammenballe, was in der That der Fall war und auf Kieselsäure hinwies. Nachdem wir nun weiter den Harn filtriert und den Rückstand verascht hatten, glühten wir ihn mehrere Male, nachdem wir ihn zwischendurch immer wieder in Wasser aufgelöst und mit Salzsäure verdampft hatten, um eben die vorhandene Kieselsäure unlöslich zu machen. In unserm Falle sahen wir nun sich im Reagenzglase deutlich eine Abscheidung absetzen, von der wir annehmen konnten, dass sie Kieselsäure repräsentierte. Zur genaueren Sicherung untersuchten wir diesen Niederschlag mikrochemisch auf Kieselsäure, indem wir wieder Fluorammonium und einige Tropfen Salzsäure hinzufügten. Das Mikroskop zeigte uns sofort die charakteristischen Täfelchen von Natriumfluorsilikat. Schliesslich wiesen wir auch in der Asche mit Hülfe der Phosphorsalzperle Kieselsäure im Harn nach.

Auch im Hundeharn vom 3., 4. und 6. April gelang es uns auf dem Wege des Versuches VIII Kieselsäure nachzuweisen.

Versuch X. — Ein Kaninchen lieferte am 5. IV., nachdem es am 4. IV. eine subcutane Einspritzung von 0,05 gr. kieselsaures Natron bekommen hatte, ca 100 c.c. eines schwarzbräunlichen, sedimenthaltigen Harnes, der reichliche Entwickelung von Kohlensäure bei Zusatz von 10 c.c. verdünnter Salzsäure zeigte und später einen weissen Niederschlag, wohl Kieselsäure, entstehen liess. Mit diesem weissen Niederschlag verfuhren wir wie mit dem Hundeharnrückstand in Versuch VIII mit dem gleichen Erfolg.

Einem andern Kaninchen spritzten wir 5 c.c. à 0,015 gr. kieselsauren Natrons ein. Am andern Tage zeigte uns die Phosphorsalzperle im Aschenrückstand des Kaninchenharnes Kieselsäure an.

Versuch XI. — Im Kaninchenharne vom 10. V. waren wieder reichliche Mengen an Kieselsäure nachweisbar, trotzdem das Kaninchen seit dem 24. IV. keine Einspritzung von kieselsaurem Natron mehr bekommen hatte. (Siehe Versuch LX.)

Versuch XII. — Auch im Harne von 5 Esculenten, denen wir vorher je 0,05 gr. kieselsauren Natrons einspritzen (vergl. Versuch LXI), liess sich mikrochemisch deutlich die Kieselsäure nachweisen, ebenso wie mit molybdänsaurem Kalium.

Versuch XIII. — Im Eiweiss und Eigelb eines zu Versuch LIX gehörigen Hühnereies vom 21. IV, nachdem das Huhn seit dem 2. IV. täglich 5 Pillen zu 0,05 gr. kieselsauren Natrons erhalten hatte, wurde mit der Phosphorsalzperle reichlich Kieselsäure nachgewiesen, ebenso fanden wir im Eiweiss eines Eies vom 7. V. Kieselsäure, wie freilich, wenn auch weniger deutlich, ja auch im Eiweiss und Eigelb des normalen Eies.

Um uns nun einen, wenn auch nur ungefähren Ueberblick über die Mengenverhältnisse der Kieselsäure in den vergifteten Eiern und den normalen zu verschaffen, verglichen wir die Zahl der Portionen mit einander, die wir von den einzelnen Aschenarten brauchten, bis die erste Kieselsäurereaktion in der Phosphorsalzperle eintrat.

Lauf. Nr	BEZEICHNUNG des Eibestandteiles	Anzahl der verbrauchten Aschen-proportionen	SCHLIESSLICHES ERGEBNIS der Versuche
I.	Normales Eiweiss	1	Reaktion vorhanden
II.	» Eigelb	4	» »
III.	vergiftetes Eiweiss v. 21. IV.	13	» intensiv
IV.	» Eigelb	1	» deutlich vorhanden
V.	» Eiweiss v. 7. V.	7	» ziemlich deutlich
VI.	» Eigelb v. 7. V.	23	» fast garnicht

Aus dieser Tabelle ist wenig zu entnehmen, was die Ungenauigkeit der Art der Untersuchung mit verschulden mag. Seltsam berührt der Vergleich des vergifteten Hühnereigelbes vom 21. IV. und vom 7. V.

Soviel glauben wir aber doch aus diesem Versuch entnehmen zu dürfen, dass selbst bei Ueberfütterung des Huhnes mit Kieselsäure als Natriumsalz eine besondere Anreicherung der Eier mit ihr nicht dauernd statt hat. Dies passt zu den Ergebnissen, welche P. HOFFMANN (1) mit Eisen erzielt hat. Auch hier nämlich nahm die Eisenmenge der Dotter erst zu, dann aber trotz Fortdauer der Fütterung wieder sehr ab.

VI. Verhalten des kieselsaurem Natriums zum Blut extra corpus und zum Eiweiss.

1. BLUTVERSUCHE AN DEFIBRINIERTEM BLUTE.

Versuch XIV. — Hammelblut. Kieselsaures Natrium, nicht neutralisiert.

1 c.c. = 0,05 gr. kiesels. Natrium.

Zu je 10 c.c. einer 3 °/oigen Hammelblutmischung mit 0,8 °/oiger (physiologischer) Kochsalzlösung, für welche Mischung wir in der Folge immer einfach 3 °/oige Blutkochsalzmischung sagen werden, setzten wir hinzu von einer 5 °/oigen kieselsauren Natriumlösung in destilliertem Wasser folgende Mengen mit beifolgendem Ergebnis nach 24 Stunden.

1. Bei 0,01 gr. kiesels. Natron auf 10 c.c. Blutkochsalzmischung ergab sich geringer Bodensatz von Blutkörperchen; darüber lackfarbenes Blut. Konzentration des Giftes 0,99 °/oo.

2. Bei 0,025 gr. kiesels. Natron auf 10 c.c. Blutkochsalzmischung ergab sich geringer Bodensatz von Blutkörperchen; darüber lackfarbenes Blut. Konzentration des Giftes 2 °/oo.

3. Bei 0,05 gr. kiesels. Natron auf 10 c.c. Blutkochsalzmischung ergab sich geringer Bodensatz von Blutkörperchen; darüber lackfarbenes Blut. Konzentration des Giftes 4,54 °/oo.

4. Bei 0,10 gr. kiesels. Natron auf 10 c.c. Blutkochsalzmischung ergab sich geringer Bodensatz von Blutkörperchen; darüber lackfarbenes Blut. Konzentration des Giftes 8,33 °/oo.

5. Kontrollglas ohne kiesels. Natron : Durch Senkung aller Blutkörper ein reichlicher Bodensatz, kein Lackfarbigwerden der darüber stehenden Flüssigkeit.

Ergebnis. — Kieselsaures Natron löste, wohl weil es nicht mit Säuren neutralisiert und nicht mit Kochsalz versetzt worden war, die Hammelblutkörperchen sehr stark auf und zwar je nach der Konzentration teils erst innerhalb 24 Stunden. Eine Umwandlung des Haemoglobins in Zersetzungsprodukte ergab die spektroskopische Untersuchung nicht; vielmehr liess sich nur Haemoglobin und Oxyhaemoglobin nachweisen.

---

(1) *Ueber den Eisengehalt des Hühnereies sowie Versuche über Anreicherung des Eisens im Ei nach Fütterung mit Haemogallol und Ferrohaemol.* Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. 40, 1901, p. 450.

Versuch XV. — Hammelblut. Kieselsaures Natrium, nicht völlig neutralisiert, wohl aber mit Kochsalz (0,6 %) versetzt. 1 c.c. = 0,05 gr. kiesels. Natr.

Zu je 10 c.c. einer 3 %igen Hammelblutkochsalzmischung setzten wir wieder die obigen Dosen von kieselsaurem Natrium, nämlich :

0,01 gr.—0,025 gr.—0,05 gr. und 0,10 gr.

Wir versetzten aber die Lösung von kieselsaurem Natrium mit Kochsalz und stumpften sie mit Salzsäure in ihrer Alkalescenz ab, ohne sie völlig zu neutralisieren. Jetzt erfolgte überhanpt keine Auflösung. In sämtlichen Proben waren vielmehr nach 24 Stunden alle Blutkörperchen geradeso wie im Kontrollglas unverklebt zu Boden gefallen, aber die Menge des roten Niederschlages war durchweg grösser als im Kontrollglase und zwar entsprechend der zugesetzten Menge an kieselsaurem Natrium verschieden, weil offenbar das kieselsaure Natrium mit niedergefallen war.

Ergebnis. — Kieselsaures Natrium, das in seiner Alkalescenz durch Salzsäure abgestumpft und in physiologischer Kochsalzlösung gelöst worden ist, wirkt auf die Blutkörperchen von Hammelblut nicht nur nicht lösend, sondern begünstigt bei gewissen Konzentrationen im Gegenteil die Bildung eines roten Sedimentes und darüber die Abscheidung einer farblosen Flüssigkeit, indem es sich an sich oder als Eiweissverbindung unlöslich abscheidet und dabei die Blutkörperchen mit niederreisst. Der Niederschlag ist hellrot und enthält das Oxyhaemoglobin chemisch unverändert. Aber die Form der Blutkörperchen ist alteriert. Die mikroskopische Untersuchung des Kontrollhammelblutes ergiebt annähernd normale Blutkörperchen. Die mit kieselsaurem Natrium im Verhältnis 0,90 : 1000 versetzte Blutmenge zeigt schon makroskopisch eine Zusammenklumpung des Blutes. Unter dem Mikroskope fällt sofort auf :

1) eine Unregelmässigkeit der roten Blutkörperchen und

2) ein haufenweises Zusammenliegen derselben, ähnlich wie bei der Rollenbildung.

Von einer verbindenden Kittsubstanz ist indess keine Spur zu entdecken.

Versuch XVI. — Schweineblut. Kieselsaures Natrium, nicht völlig neutralisiert und mit Kochsalz versetzt. 1 c.c. = 0,05 gr. kiesels. Natr.

Versuchsanordnung und Erfolg ganz entsprechend wie bei Versuch XV.

Versuch XVII. — Kalbsblut. Kieselsaures Natrium nicht völlig neutralisiert und mit Kochsalz versetzt. 1 c.c. = 0,05 gr. kiesels. Natr.

Versuchsordnung und Erfolg wie bei Versuch XV, nur zeigte diesmal schon das Kontrollblut eine grössere Unregelmässigkeit der roten Blutkörperchen als das Kontrollblut im Versuche XV.

Versuch XVIII. — Hammelblut, Schweineblut, Kalbsblut. Filtrierversuch, 1 c.c. = 0,05 gr. kiesels. Natr.

Beim Filtrieren unserer Blutproben der Versuche XV, XVI und XVII ergab sich folgendes Resultat bezüglich der Beschaffenheit des Filtrates :

Konzentrat. des Giftes	DAS FILTRAT WAR BEIM		
	Hammelblut	Kalbsblut	Schweineblut
8,33 °/oo	Leicht rötlich, klar und durchsichtig	Wie beim Hammelblut, also blutkörperchenfrei	Wie beim Hammelblut also blutkörperchenfrei
4,54 °/oo	Mehr gerötet, klar und durchsichtig	Wie beim Hammelblut also blutkörperchenfrei	Wie beim Hammelblut also blutkörperchenfrei
2,59 °/oo	Etwas getrübt durch Blutkörperchen	Trübung stärker als bei dem Hammelblut	Trübung stärker als bei dem Hammelblute
2,00 °/oo	Starke Trübung durch Blutkörperchen	Trübung stärker als bei dem Hammelblut	Trübung stärker als bei dem Hammelblute
0,99 °/oo	Noch stärkere Trübung	Sehr starke Trübung	Sehr starke Trübung
Kontrolle	Alle Blutkörperchen gehen ungelöst ins Filtrat	Alle Blutkörp. im Filtrat und zwar ungelöst	Alle Blutkörp. im Filtrat und zwar ungelöst

Ergebnis. — Die geringste Konzentration der Versuchsflüssigkeit an kieselsaurem Natron, die noch alle roten Blutkörperchen ausfällt, liegt beim Hammel-, Kalbs- und Schweineblut zwischen 0,45 °/o und 0,26 °/o.

Versuch XIX. — Hammelblut. Kieselsaures Natrium nicht in Alkalescenz abgestumpft, sondern nur in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. 1 c.c. = 0,05 gr. kiesels. Natr.

Zu 200 c.c. unserer 5 °/oigen kieselsauren Natronlösung setzten wir für die kommenden Blutversuche 1,5 gr. Kochsalz. Unser Gift ist somit jetzt in einer 0,75 °/oigen Kochsalzlösung gelöst. Wir setzten zu je 10 c.c. einer 2 °/oigen Hammelblutkochsalzmischung wieder unsere Dosen von

0,01 gr.—0,025 gr.—0,035 gr.—0,05 gr.—0,10 gr.

kieselsaurem Natrium in obiger physiologischer Kochsalzlösung. Am nächsten Tage zeigte sich eine völlige Auflösung der Blutkörperchen in allen Proben bis auf einen recht geringen Bodensatz roter Blutkörperchen, den wir bei Zusatz von kieselsaurem Natrium 2 : 1000 Blutkochsalzlösung schon wahrnehmen und in vermehrter Menge beim Zusatz von 0,99 : 1000. Ueber diesem Bodensatz war das Blut in allen übrigen Proben lackfarben. Ein Versuch, das mit kieselsaurem Natrium 8,33 : 1000 Blutkochsalzlösung versetzte Hammelblut nachträglich durch vorsichtigen Säurezusatz zu entalkalisieren, ergab noch bei alkalischer Reaktion einen voluminösen schwachrötlichen Niederschlag, über dem die Flüssigkeit rot blieb.

Ergebnis. — Durch die nach völliger Lösung der Blutkörperchen ausfallende Kieselsäure wird nur ein Teil des gelösten Haemoglobins mit niedergerissen. Die Verhältnisse der Fällbarkeit sind also für in Blutkörperchen enthaltenen Blutfarbstoff, d. h. für Arterin, und für gelöstes Oxyhaemoglobin verschieden. Betreffs sonstiger Unterschiede zwischen

Arterin und Oxyhaemoglobin verweise ich auf die Ausführungen meines Kommilitonen H. U. KOBERT(1).

Versuch XX. — Schweineblut. Kieselsaures Natrium, nicht in seiner Alkalescenz abgestumpft, sondern nur in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. 1 c.c. = 0,05 gr. kiesels. Natrium.

Anordnung und Ergebnis wie bei Versuch XIX.

Versuch XXI. — Kalbsblut. Kieselsaures Natrium, nicht in seiner Alkalescenz abgestumpft, sondern nur in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. 1 c.c. = 0,05 gr. kiesels. Natrium.

Versuchsanordnung und Ergebnis wie bei Versuch XIX, nur zeigt das Kalbsblut erst bei einem kieselsauren Natriumgehalt der Blutkochsalzmischung von 0,99 : 1000 einen leichten Bodensatz.

Versuch XXII. — Hammelblut. Kieselsaures Natron in steigender Entalkalisierung. 1 c.c. = 0,05 gr. kiesels. Natrium.

Wir stellten zu wiederholten Malen sechs Reihen von je 5 Reagenzgläsern auf und versahen die sechs ersten Reagenzgläser der sechs Reihen mit je 0,01 gr. kieselsaurem Natron, die sechs zweiten Reagenzgläser der sechs Reihen mit je 0,025 gr. kieselsaurem Natron, die sechs dritten Reagenzgläser der sechs Reihen mit je 0,035 gr. kieselsaurem Natron, die sechs vierten mit je 0,05 und die sechs fünften Reagenzgläser der sechs Reihen mit je 0,10 gr. kieselsaurem Natron in physiologischer Kochsalzlösung. Dann gossen wir in jedes der fünf Reagenzgläser der ersten Reihe zur Abschwächung der starken Alkalescenz je einen Tropfen verdünnter Salzsäure, in jedes der fünf Reagenzgläser der zweiten Reihe je zwei Tropfen, in jedes der dritten Reihe je drei, in jedes der vierten je vier, in jedes der fünften je fünf und in jedes Reagenzglas der sechsten Reihe je sechs Tropfen verdünnter Salzsäure und schliesslich versahen wir ein jedes der dreissig Reagenzgläser mit 10 c.c. einer 3 %igen Hammelblutkochsalzmischung.

Nach 24 Stunden zeigte sich dann immer in allen Gläsern mit 0,01 gr. kieselsaurem Natron ein Bodensatz, der auch noch in den mit 0,025 gr. kieselsaurem Natron versetzten Gläsern in verringerter Menge vorhanden war, nachher in den Proben höherer Konzentration von kieselsaurem Natron sich nicht zeigte; statt dessen war immer lackfarbenes Blut wahrzunehmen.

Ergebnis. — Bei kleinen Dosen von schwach alkalisch reagierendem kieselsaurem Natrium erfolgt Ausfällung der Blutkörperchen, bei grossen Dosen und stärkerer Alkalescens aber nicht, da jetzt die Alkalescenz so gross ist, dass Auflösung der Blutkörperchen eintritt. Ein Niederschlag kommt dann eben nicht zustande.

Versuch XXIII. — Hammelblut. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natrium.

Um nun bei unseren weiteren Blutversuchen die auf der Alkalescenz unseres

---

(1) H. U. KOBERT : *Ueber das mikrokristallographische Verhalten des Wirbeltierblutes.* Stuttgart, 1901, p. 9.

kieselsauren Natriums beruhende Auflösung der Blutkörperchen auszuschalten, suchten wir uns eine Lösung von kieselsaurem Natrium zu verschaffen, die durch successiven Zusatz einer 1 ‰ Salzsäurelösung fast neutralisiert ist. Das erreichten wir, indem wir zu je 10 c.c. unserer 5 %igen kieselsauren Natriumlösung 106 c.c. der verdünnten Salzsäure hinzusetzten und dazu noch 3 c.c. einer 33 % igen Kochsalzlösung. Somit enthält 1 c.c. dieser neuen Lösung 4,2 milligr. kieselsauren Natriums.

Je 10 c.c. einer 3 %igen Hammelblutkochsalzmischung versetzten wir mit 1 c.c. (= 4,2 milligr.), 2,5 c.c. (= 10,5 milligr.), 5 c.c. (= 21 milligr.) und 10 c.c. (= 42 milligr.) kieselsauren Natriums in Form dieser Lösung.

Entsprechend der hinzugesetzten Menge an kieselsaurem Natrium zeigte der nach 24 Stunden entstandene Niederschlag, der alle roten Blutkörperchen in unfiltrierbarer Form enthielt, eine wesentliche Volumzunahme, sodass man annehmen muss, dass mit den Blutkörperchen auch die Kieselsäure mit niedergerissen worden ist. Besonders gut gelang unser Versuch, wie wir später sehen werden, mit Taubenblut (Versuch XXVI).

Ergebnis. — Nach dem Volumen des Niederschlages zu schliessen, müssen wir annehmen, dass entweder das Blut Stoffe enthält, die eine Ausscheidung der Kieselsäure in ungelöster Form bei einem Alkalescenzgrade bedingen, bei dem eine kieselsäurehaltige Flüssigkeit in gleicher Concentration sich noch indifferent verhält, oder dass das kieselsaure Natrium mit der ganzen Substanz der roten Blutkörperchen bezw. mit dem Stroma bei nicht zu starker Alkalescenz eine ähnliche Verbindung eingeht, wie Ricin, Abrin, Crotin. Ich verweise betreffs dieser auf die Schrift meines Kommilitonen Lau (1).

Auffallend ist, dass in dem mit 2,5 c.c. unserer Versuchsflüssigkeit versehenen Reagenzröhrchen, also bei einem Gehalt der Blutflüssigkeit von 0,84 ‰ an kieselsaurem Natrium, die Ausfällung des Niederschlages am schnellsten vor sich geht.

Versuch XXIV. — Kalbsblut. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natr.

Versuchsanordnung und Ergebnis wie bei Versuch XXIII.

Versuch XXV. — Schweineblut. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natr.

Versuchanordnung und Ergebnis wie bei Versuch XVIII.

Versuch XXVI. — Taubenblut. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natrium.

Versuchsanordnung wie bei Versuch XXIII. Das *Ergebnis* war genau dasselbe wie vorher. Der Versuch verlief besonders schön. Also auch beim Taubenblut vermag das kieselsaure Natron, falls es fast neutralisiert und

---

(1) Carl Lau : *Ueber vegetabilische Blutagglutinine.* Inaug. Dissert., Rostock, 1901.

mit physiol. Kochsalzlösung gemischt ist, eine Ausfällung sämtlicher roten Blutkörperchen in der Weise des Ricins oder Abrins zu bewirken.

Der Versuch verlief wohl deshalb so glatt, weil das Taubenblut im Gegensatze zu den Blutarten der Versuche XXIII—XXV ganz frisch war. Besonders eclatant war die Schnelligkeit der Ausfällung der roten Blutkörperchen beim Zusatz von 2,5 c.c. unserer Lösung = 0,84 : 1000 Blutmischung.

Versuch XXVII. — Taubenblut.

Der Blutversuch mit dem Taubenblut, der so glänzend gelang (Versuch XXVI), wird weiter verfolgt. Wir wollen festzustellen suchen, ob die Kieselsäure völlig mit den Blutkörperchen ausgefällt wird, oder ob ein Teil von ihr in der klaren Flüssigkeit über dem Niederschlag gelöst bleibt. Wir waren nun imstande, in dem Filterrückstande des mit kieselsaurem Natrium versetzten Blutes sowohl, wie in dem eingedampften klaren Filtrat mit Hülfe der Phosphorsalzperle in beiden Fällen erhebliche Mengen von Kieselsäure nachzuweisen.

Ergebnis. — Wir sehen an diesem Versuche, das eine gewisse Menge von Kieselsäure bei der Agglutination der Blutkörperchen verbraucht wird und in den Niederschlag übergeht, während ein anderer Teil in der Flüssigkeit selber gelöst bleibt.

Versuch XXVIII. — Taubenblut. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natrium.

Der Filtrierversuch verschiedener derartiger Versuche ergiebt, dass das Filtrat des mit kieselsaurem Natrium 1,4 : 1000 und 2,1 : 1000 versetzten 3 %igen Taubenblutes völlig klar ist. Bei der mit weniger kieselsaurem Natrium, nämlich nur mit 0,38 : 1000, versetzten Blutmenge ist das Filtrat nicht klar sondern blutkörperchenhaltig. Ein anderer Teil der Blutkörperchen bleibt aber agglutiniert auf dem Filter zurück.

Ergebnis. — Die untere Grenze, bei welcher eine Ausfällung der Blutkörperchen noch statt hat, liegt zwischen 0,38 ‰ und 1,4 ‰ Gehalt des Taubenblutkochsalzgemisches an kieselsaurem Natrium.

Versuch XXIX. — Hammelblut. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natrium.

Wir setzten wieder zu je 10 c.c. einer 3 %igen Hammelblutkochsalzmischung : 1 c.c.; 2,5 c.c.; 5 c.c. und 10 c.c. unserer kieselsauren Natriumlösung (1 c.c. = 4.2 milligr.).

Am nächsten Tage ergiebt sich wieder ein roter Bodensatz, der entsprechend der Menge des hinzugesetzten kieselsauren Natriums zunimmt. Beim Filtrieren bleibt jedesmal bei 2,5, bei 5 und bei 10 c.c. entsprechend 0,84 : 1000, 1,4 : 1000 und 2,1 : 1000, beim ersten Filtrieren ein grosser Teil der Blutkörperchen auf dem Filter zurück. Das Filtrat ist in allen Fällen rot und trübe und zeigt bei steigendem Gehalt an kieselsaurem Natrium einen nachträglich entstehenden geringen Bodensatz. Bei 2,5 c.c. (= 0,84 : 1000) sieht man über dem trüben und rötlichen unteren Teil des Filtrates einen kleinen Strich

wasserklarer und farbloser Flüssigkeit, bei 5 c.c. und 10 c.c. (= 1,4 und 2,1 : 1000) ist das Filtrat klar und lackfarben ohne Bodensatz.

Versuch XXX. — Hundeblut. Kieselsaures Natrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natrium.

Versuchsanordnung wie bei Versuch XXIX.

Nach 24 Stunden ist eigentümlicherweise die mit 10 c.c. (= 2,1 : 1000) versetzte Blutprobe völlig aufgelöst, ohne Bodensatz im Gegensatze zu dem analogen Versuch XXIX, der zugleich mit diesem angesetzt wurde.

Die Filtrierung dieser Blutproben ergiebt, dass das mit 2,5 c.c. (= 0,84 : 1000) versetzte 3 %ige Hundeblut beim ersten Versuch des Filtrierens einen schwachen Rückstand auf dem Filter lässt, während das anfangs trübe Filtrat sich später unter Absetzung eines geringen Bodensatzes klärt und nun lackfarben ist. Das mit 5 c.c. (= 1,4 : 1000) versetzte Blut zeigt noch einen geringen Filterrückstand. Das Filtrat ist klar ohne Bodensatz und lackfarben. Das mit 10 c.c. (= 2,1 : 1000) versetzte Blut lässt keinen Filterrückstand zurück. Das Filtrat ist völlig klar und lackfarben.

Ergebnis. — Aus dem Vergleich des Verhaltens des Hammelblutes im vorigen Versuch und dem Hundebut in diesem, ergiebt sich, dass das Hundeblut sich schon bei Zusatz von solchen Mengen an kieselsaurem Natrium löst, die das Hammelbut kaum alterieren. Bei Taubenblut findet, wie wir in Versuch XXVI gesehen haben, überhaupt keine Auflösung statt. Die Blutarten verhalten sich demnach verschieden. Auch derartiges kommt bei Abrin, Ricin u. s. w. vor, das heisst, bei den pflanzlichen Agglutininen, mit denen unser kieselsaures Natrium also entschieden Aehnlichkeit hat.

Versuch XXXI. — Schweineblut. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesel. Natrium.

Wir stellen jetzt einen Blutversuch an, der uns sagen soll, bei welchem Gehalt der Blutkochsalzmischung an kieselsaurem Natrium eben noch eine Ausfällung aller Blutkörperchen stattfindet. Zu je 10 c.c. einer 3 %igen Schweineblutkochsalzmischung setzen wir hinzu 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 c.c. unserer Versuchsflüssigkeit, 1 c.c. = 4,2 milligr. kieselsaures Natrium. Da ergiebt sich denn wieder das uns schon bekannte Resultat, dass der Bodensatz niedergerissener Blutkörperchen entsprechend der hinzugesetzten Menge kieselsauren Natriums wächst; darüber steht eine Schicht roter Blutkörperchen und darüber ist dann die Flüssigkeit ungefärbt und klar. Der Filtrierversuch ergiebt, dass die roten Blutkörperchen das Filter passieren bei 1 und 2 c.c. unserer Versuchsflüssigkeit (= 0,45 ‰ und 0,83 ‰ kieselsaurem Natrium). Bei 3 c.c. (= 1,15 ‰) lässt der Filtrierversuch schon weniger Blutkörperchen hindurch und bei 4 c.c. (= 1,43 ‰) noch weniger. Bei 5—8 c.c. (= 1,67 ‰—2,22 ‰) gehen überhaupt keine Blutkörperchen mehr durch das Filter.

Somit liegt die untere Grenze *der Agglutination des Schweineblutes durch kieselsaures Natrium* zwischen 0,83 ‰ und 1,15 ‰ Gehalt der Blutmischung an kiesels. Natrium. Die mikroskopische Untersuchung zeigt uns wieder

ein Zusammenballen der etwas zackigen roten Blutkörperchen. Die Blutkörperchen des Kontrollblutes sind rund und von einander getrennt. Eine Kittmasse ist zwischen den obigen zusammengeballten Blutkörperchen nicht zu erkennen. Wir müssen also annehmen, dass *die einzelnen Blutkörperchen durch den Zusatz von kieselsaurem Natrium eine klebrige Oberfläche erhalten.*

Versuch XXXII. — Hühnerblut. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natrium.

Zu je 10 c.c. einer 3 %igen Hühnerblutkochsalzmischung setzten wir nach einander 1, 2, 3, 4...8 c.c. à 0,15 gr. kieselsauren Natriums. Wir sehen wieder den bekannten roten Niederschlag innerhalb zweier Stunden eintreten, an Menge steigend mit steigendem Zusatz von kieselsaurem Natrium. Im Verlaufe des nächsten Tages lagert sich dem roten Niederschlag noch ein weisser auf von kieselsaurem Albumin, der offenbar specifisch leichter ist und dabei langsamer ausfällt.

Versuch XXXIII. — Schildkrötenblut. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natrium.

Zu je 10 c.c einer 1 %igen Schildkrötenblutkochsalzmischung setzten wir 1, 2, 3, 4 c.c. der kieselsauren Natriumlösung à 0.015 gr. kieselsauren Natriums hinzu. Nach zwei Stunden sind in allen 4 Reagenzgläsern die Blutkörperchen ausgefallen; wieder progressiv zur Menge des hinzugesetzten kieselsauren Natriums wachsender Bodensatz.

Der Filtrierversuch lässt bei keiner der vier Proben Blutkörperchen durch das Filter treten, wohl aber beim Kontrollblut, dessen gleichfalls zu Boden gefallene Blutkörperchen alle das Filter passieren.

Ergebnis. — Auch Hühnerblut und Schildkrötenblut lassen sich durch kieselsaures Natrium ausfällen, verhalten sich diesem Mittel gegenüber also analog wie dem Abrin und Ricin gegenüber.

Versuch XXXIV. — Kalbsblut. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert in bedeutendem Ueberschuss.

Bei Zusatz von sehr vielem, kieselsaurem Natron zu einigen c.c. def. Kalbsblutes tritt neben einem Niederschlag von roten Blutkörperchen auch eine teilweise Auflösung derselben ein, trotzdem, wie wir aus Versuch XVII und XXIV wissen, bei kleineren Dosen kieselsauren Natriums nichts von Auflösung roter Blutkörperchen sich zeigt.

Die Auflösung ist hier vermutlich von der mit wachsender Menge an kieselsaurem Natrium wachsenden Alkalescenz herzuleiten.

Versuch XXXV. — Katzenblut. Kieselsaures Natrium. Grenzbestimmungen. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natrium.

Um die unterste Grenze, bei der beim Katzenblut noch ein vollständiges Ausfallen aller roten Blutkörperchen und eine mikroskopisch wahrnehmbare Veränderung der roten Blutkörperchen durch kieselsaures Natrium statfindet, festzusetzen, nehmen wir folgenden neuen Versuch vor:

Zu je 10 c.c. einer 3 %igen Katzenblutkochsalzmischnng setzen wir 2; 1,5; 1; 0,9; 0,8; 0,7 etc. bis 0,1; 0,09; 0,08; 0,07 etc. bis 0,01; 0,009; 0,008; 0,007; 0,006 etc. bis 0,001 c.c. à 0,015 gr. kieselsauren Natriums repräsentierend.

Nach 24 Stunden zeigt sich ein vollständiges Ausfallen der verklebten roten Blutkörperchen von 2 c.c. herab bis zu 1 c.c. Bei 0,9 c.c. bleibt schon ein Teil der roten Blutkörperchen in der Flüssigkeit suspendiert. Der Bodensatz nimmt ab bis zu 0,1 c.c. Von 0,09 bis 0,01 erscheint er überall ungefähr gleich, darüber ist in diesen letzten neuen Gläsern die Flüssigkeitssäule etwa im unteren Drittel rot und undurchsichtig, in den oberen zwei Dritteln ungefärbt und wasserklar, ebenso verhält es sich mit den Gläsern von 0,009 bis herab zum letzten 0,001 c.c. Bei 1 c.c. ist das Filtrat noch klar und ungefärbt, bei 0,9 c.c. nicht mehr (= 0,71 ‰).

Ergebnis. — Die äusserste Grenze der Agglutination, d. h. des vollständigen Ausfallens und Unfiltrierbarwerdens aller Blutkörperchen einer 3 %igen Katzenblutkochsalzmischung hat statt bei 1,36 ‰ Gehalt der Mischung an kieselsaurem Natrium, berechnet wie auch in allen früheren Fällen auf krystallisiertes Natrium silicicum.

Unter dem Mikroskope sehen wir die Blutkörperchen unregelmässig und zackig, ausserdem bemerken wir ganz leichte Zusammenklumpung (bis zu je 10 Blutkörperchen ansteigend) herab bis zu 0,7 c.c. auf 10 c.c. Mischung = 0,62 ‰. Bei = 0,56 ‰ sieht man schon einzelne runde Blutkörperchen, bei weiten die meisten sind aber noch zackig. Zusammenklumpung bemerkt man hier nicht mehr. Auch noch bei 0,09 und 0,01 c.c. (= 0,071 ‰ und 0,013 ‰) sind viele Blutkörperchen zackig. Bei 0,008 (= 0,0067 ‰) können wohl alle Blutkörperchen als rund gelten.

Somit liegt die äusserste Grenze des Einwirkens von kieselsaurem Natrium auf eine 3 %ige Katzenblutkochsalzmischung bei 0,013 % Gehalt der Blutflüssigkeit an dem agglutinierenden Gifte.

Versuch XXXVI. — Katzenblut. Kieselsaures Natrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 gr.

Da wir bei allen unsern Blutversuchen immer zu einer gleichen Menge Blutkochsalzmischung eine je nach der Menge des hinzuzusetzenden kieselsauren Natriums verschiedene Anzahl von Cubikcentimetern unserer Versuchsflüssigkeit hinzufügten, somit die Volumina der einzelnen Proben ungleich machten, ist es im Interesse unserer Versuche, festzustellen, ob bei Abnahme der Konzentration des Blutes in der Blutkochsalzmischung im übrigen aber bei gleichbleibenden Blutmengen das Resultat mit kieselsaurem Natrium verschoben wird.

Zu diesem Zwecke verdünnten wir jedesmal unsere 10 c.c. 3 %iger Katzenblutkochsalzmischung mit 10 c.c. physiologischer Kochsalzlösung, so dass wir also jetzt immer 20 c.c. einer 1 1/2 %igen Blutmischung vor uns hatten, und setzten wieder unsere bekannten Dosen von 1, 2, 3, 4 etc. bis 8 c.c. à 0,015 gr. kieselsauren Natrium zu den entsprechenden Proben.

Die Ausfällung aller roten Blutkörperchen ging gleichfalls wie immer schon nach 2 Stunden in den bekannten progressiven Mengen vor sich. Die Flüssigkeitssäule über allen Bodensätzen war völlig wasserklar und ungefärbt.

Ergebnis. — Das Blutkochsalzvolumen an sich übt innerhalb gewisser Grenzen auf die Fällung der roten Blutkörperchen durch kieselsaures Natrium keinen wesentlichen Einfluss aus.

Versuch XXXVII. — Katzenblut. Kieselsaures Natrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natrium.

Um dem Vorwurf zu entgehen, bei unsern Blutversuchen wäre die Kieselsäure durch die Kohlensäure der Luft ausgefällt, und sie hätte somit erst sekundär die Blutkörperchen mit niedergerissen, stellen wir einen Versuch an mit 3 %iger Katzenblutkochsalzmischung.

Zu je 20 c.c. der dreiprozentigen Katzenblutkochsalzmischung setzen wir 4; 5 und 6 c.c. à 0,015 gr. kieselsauren Natriums. Wir bringen unsere Proben in verkorkbare kleine Fläschchen und verschliessen sie so mit einem Korken, dass keine nennbaren Luftmengen, vielweniger also Kohlensäuremengen, über der Flüssigkeit zurückbleiben. Es ist somit also die Kohlensäure so gut wie völlig von unsern Proben ferngehalten. Trotzdem hat sich schon nach 20 Minuten in allen vier Fläschchen der bekannte Niederschlag in den bekannten progressiven Mengen deutlich gebildet und gesenkt.

Ergebnis. — Die Kohlensäure der Luft hat auf die Ausfällung der Kieselsäure in unseren Versuchen keinen erkennbaren Einfluss.

Versuch XXXVIII. — Hundeblut. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natrium.

Zu je 10 c.c. einer 3 %igen Hundeblutkochsalzmischung setzten wir wieder 1, 2, 3, 4, 5 etc. bis 8 c.c. à 0,015 gr. kieselsauren Natriums. Am nächsten Tage zeigte sich wieder Fällung der Blutkörperchen in Mengen progressiv zur Menge des hinzugesetzten Giftes. Darüber völlig klare und ungefärbte Flüssigkeit. Der Filtrierversuch liess die Blutkörperchen in allen Proben auf dem Filter zurück.

Die zurückgebliebenen Blutkörperchen schütteln wir mit reichlichen Mengen destillierten Wassers, das eine rötliche Färbung annahm. Der Blutkörperchenniederschlag aber löst sich nicht völlig auf, sondern entfärbt sich nur, dann fällt er als gröberes Pulver wieder zu Boden. Er wird beim Answaschen immer heller und stellt schliesslich eine Verbindung vor von kieselsaurem Natrium mit dem Stroma der Blutkörperchen. Unter dem Mikroskope erweist sich diese Verbindung als strukturlos und feinkörnig. In kohlensaurem Natrium löst sich ein Teil des Niederschlages auf.

Ergebnis. — Dieser Versuch zeigt, dass die Verbindung der Kieselsäure mit dem Arterin durch destilliertes Wasser unter Austritt von gelöstem Haemoglobin zersetzt werden kann; aber die restierende Stromaverbindung der Kieselsäure fällt als weisses Pulver unlöslich wieder zu Boden.

2. Versuche an undefibriniertem Blut.

Bekanntlich besitzen die neutralen und die schwach alkalischen Lösungen der Salze der Oxalsäure die Fähigkeit die Gerinnbarkeit des Blutes aufzuheben, ohne irgend wie die Blutkörperchen zu alterieren.

Ich verweise betreffs dieser Thatsache auf die Schrift meines Kommilitonen VIETINGHOFF(1). Ich benutzte zu meinen Versuchen 1 %iges neutrales oxalsaures Natrium.

Versuch XXXIX. — Oxalsäurehaltiges Katzenblut. Kieselsaures Natrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natrium.

Zu je 10 c.c. einer natriumoxalathaltigen Katzenblutkochsalzmischung setzten wir wieder 1, 2, 3, 4 etc. bis 8 c.c. à 4,2 milligr. kieselsauren Natriums, und da fand sich dann die Thatsache, der wir auch schon beim Versuche XXVI betreffs des Taubenblutes Erwähnung thaten, dass bei einer bestimmten Konzentration, nämlich hier bei 1,40 ‰ Gehalt des Gemisches an kieselsaurem Natrium, die Fällung der roten Blutkörperchen bei unserm 2 1/2 %igen Katzenblut — es war ana mit Oxalatlösung gemischt — am schnellsten vor sich ging, nämlich schon in ca. 1/2 Stunde. Bei schwächerer Konzentration ging die Fällung langsamer vor sich, merkwürdigerweise aber auch bei stärkerer.

Zur Erklärung muss wohl darauf Bezug genommen werden, dass unser kieselsaures Natrium nicht völlig neutralisiert ist, und dass bei Zusatz grösserer Mengen desselben, die dadurch erhöhte Alkalescenz der Mischung den Niederschlag wieder löst, der beim Fehlen der Alkalescenz entstehen würde.

Der Bodensatz ist wieder wie immer entsprechend dem Zusatze an kieselsaurem Natrium vermehrt. Nur bei 1 und 2 c.c. (= 0,45 ‰ und 0,83 ‰) kieselsauren Natriums ist die Fällung nach 5 Stunden noch keine völlige, während sie auch hier nach 24 Stunden vollendet ist. Das Filtrat ist bei allen Proben völlig klar; alle Blutkörperchen bleiben auf dem Filter zurück.

Ergebnis. — Das Fibrinogen übt auf den Verlauf unserer Versuche keinen störenden Einfluss aus, ja, es unterstützt eher die Fällbarkeit der Blutkörperchen durch kieselsaures Natrium.

Versuch XL. — Frisches Hundeblut. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert, im Ueberschuss. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natrium.

Wir liessen frisches Hundeblut direkt aus der Ader in eine Schale voll von unserer 1,5 %igen kieselsauren Natriumlösung tröpfeln. Nach einer Stunde lag ein grösseres fibrinhaltiges Gerinnsel am Boden, und die übrigen Blutkörperchen waren als feines Pulver ausgefällt.

Ergebnis. — Die Fibrinbildung wird vom kieselsauren Natrium eben nicht aufgehoben, nur werden nicht alle Blutkörperchen in das Gerinnsel eingeschlossen.

Versuch XLI. — Frisches Froschblut. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert und im Ueberschuss. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natr.

Versuchsanordnung und Ergebnis wie beim Versuche XL.

---

(1) EDUARD FREIHERR V. VIETINGHOFF-SCHEEL : *Ein Beitrag zur exp. Erforschung der Wirkung und des physiologisch-chemischen Verhaltens der Oxalsäure und ihres neutralen Natriumsalzes.* Dieses Arch., Bd. VIII, p. 225, 1901.

Versuch XLII. — Frisches Katzenblut. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert und im Ueberschuss. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natrium.

In ein Reagenzgläschen, z. T. gefüllt mit unserer 1,5 %igen kieselsauren Natriumlösung, liessen wir aus einer Katze direkt Blut fliessen.

Nach 15 Minuten gewahrten wir ganz oben in der Flüssigkeitssäule eine klare Schicht. Im übrigen war das Gläschen ganz erfüllt mit einer rötlichen trüben Flüssigkeit. Unten nahmen wir einen geringen Bodensatz roter Blutkörperchen wahr. Nach 2 Stunden war der Bodensatz vermehrt, die Flüssigkeitssäule oben klar und rötlich, unten trübe und rötlich. Nach 16 Stunden ist die ganze Flüssigkeitssäule lackfarben von rotbläulichem Aussehen. Diese Färbung nimmt von oben nach unten an Intensität zu. Unten ist ein offenbar auf Fibringerinnung beruhendes Blutgerinnsel als Bodensatz bemerkbar. Das Filtrat war rot und undurchsichtig, die Blutkörperchen des Filtrates im Grossen und Ganzen rund, die des unfiltrierbaren Bodensatzes zusammengeklumpt und unregelmässig, aber nicht zackig. Nach 30 Stunden ist die Flüssigkeitssäule in ihrem oberen bei weitem grösseren Teil nur schwach lackfarben und klar, am Boden ist ein starker roter Niederschlag und darüber eine kleine Schicht von tiefrotem lackfarbenem Blute.

Die Kontrollprobe, die gleichfalls frisches undefibriniertes Blut in einem Ueberschuss von physiologischer Kochsalzlösung enthält, zeigte uns nach 15 Minuten ganz oben im Gläschen eine dünne wasserklare ungefärbte Schicht, im übrigen aber war die Flüssigkeitssäule von oben nach unten immer dunkler gefärbt und absolut undurchscheinend. Nach 2 Stunden war die klare Schicht vergrössert und am Boden lag ein geringer Bodensatz. Nach 15 Stunden war die Flüssigkeitssäule in der oberen Hälfte klar und ungefärbt, in der unteren Hälfte trübe und rötlich. Der Bodensatz war schon sehr vermehrt. Alle Blutkörperchen passierten das Filter. Nach weiteren 15 Minuten war wieder ein deutlicher Bodensatz im Filtrat. Unter dem Mikroskope erschienen alle Blutkörperchen rund. Nach 30 Stunden bestand ein grösserer Bodensatz und darüber war die Flüssigkeitssäule hell und ungefarbt. Beim Schütteln zerteilte sich der Bodensatz wieder gleichmässig in der Flüssigkeit.

Ergebnis. — Kieselsaures Natrium in Ueberschuss löst einen Teil der Körperchen des undefibrinierten Katzenblutes (wohl nur wegen der vermehrten Alkalescenz) auf und fällt den Rest.

3. Versuche an Blutserum.

Versuch XLIII. — Hammelblutserum. Kieselsaures Natrium, fast desalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natrium.

Zu je 10 c.c. einer 25 %igen Hammelblutserumkochsalzmischung setzten wir unsere bekannten Dosen hinzu von 1, 2, 3, 4 etc. bis 8 c.c. à 4,2 milligr. kieselsaures Natrium.

Ergebnis. — Das Blutserum vom Hammel bildet auch allein für sich mit dem kieselsauren Natrium einen Niederschlag, der progressiv der hinzugesetzten Menge des kieselsauren Natriums wächst.

Versuch XLIV. — Schweineblutserum. Kieselsaures Natrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natrium.

Versuchsanordnung und Verlauf wie bei Versuch XLIII. Unter dem

Mikroskop erweist sich dieser Niederschlag des Serumeiweisses mit der Kieselsäure als fein granuliertes zartes Häutchen. Mit der Phosphorsalzperle wiesen wir in diesem Niederschlag Kieselsäure nach.

Ergebnis. — Serum allein ohne Blutkörperchen fällt die Kieselsäure auch aus, bzw. einer der Eiweissstoffe des Serums wird von der Kieselsäure ausgefällt, und zwar wahrscheinlich in Form eines Albuminates.

Versuch XLV. — Carcinomatöse Ascitesflüssigkeit. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 milligr. kiesels. Natrium.

Zu je 10 c.c. der unverdünnten Ascitesflüssigkeit vom gleichen Tage setzten wir wieder 1, 2, 3, 4 etc. bis 8 c.c. à 4,2 milligr. kieselsauren Natriums. Nach zwei Stunden zeigte sich wieder ein dicker Niederschlag. Nach Analogie früherer Blutversuche (Versuche XXXIX und XXVI) geschah die Ausfällung wieder bei einer bestimmten nicht höchsten Konzentration der Flüssigkeit an kieselsaurem Natrium am schnellsten und zwar dieses Mal bei Zusatz von 4 c.c. (= 1,2 ‰). Mit noch weiter steigendem Zusatze von kieselsaurem Natrium fällt der Niederschlag sogar um so langsamer aus.

Ergebnis. — Also auch blutkörperchenfreie Ascitesflüssigkeit wird gefällt, wohl weil ein Kieselsäurealbuminat gebildet wird. Es lässt sich daraus die Vermutung ziehen, das auch andere dem Blutserum ähnliche Flüssigkeiten gefällt werden dürften. (Siehe Versuche XLIII und XLIV.)

4. Blutversuche an Blutkörperchen.

Versuch XLVI. — Hammelblutkörperchen. Kieselsaures Natrium fast desalkalisiert 1 c.c. = 4,2 milligr. kieselsaures Natrium.

Zu je 10 c.c. einer 1 1/2 %igen Hammelblutkörperchenkochsalzmischung setzten wir wieder 1, 2, 3, 4, etc. bis 8 c.c. à 4,2 milligr. kieselsauren Natriums.

Schon nach 2 Stunden haben die Blutkörperchen die Kieselsäure gefällt oder sind von ihr gefällt worden.

Versuch XLVII. — Schweineblutkörperchen. Kieselsaures Natrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 4,2 gr. kieselsaures Natrium.

Zu je 10 c.c. einer 1 1/2 %igen Schweineblutkörperchenkochsalzmischung setzten wir wieder 1, 2, 3, 4, etc. bis 8 c.c. à 4,2 milligr. kieselsauren Natriums. Wieder zeigte sich die bekannte Ausfällung der Blutkörperchen am schnellsten bei 4—5 c.c. (= 1,2 ‰ und 1,4 ‰). Der Niederschlag steigt wieder progressiv der hinzugesetzten Menge an kieselsaurem Natrium. Unter dem Mikroskop sieht man die Blutkörperchen der Kontrolllösung unverändert, die der anderen vergifteten Gläser sind unregelmässig und kleben in grösseren Klumpen zusammen. Eine Kittsubstanz ist wieder nicht wahrnehmbar. In dem veraschten Blutkörperchenrückstand einiger Gläser auf dem Filter liess sich mit Hülfe der Phosphorsalzperle, des molybdänsauren Kaliums und auf mikrochemischem Wege recht deutlich Kieselsäure nachweisen.

Ergebnis. — Auch Blutkörperchen allein ohne Serum fällen die Kieselsäure resp. sie werden von ihr ausgefällt. Man darf hier wohl mit Sicherheit eine Verbindung der Kieselsäure mit dem ganzen Arterin-

komplex annehmen. Diese Verbindung wird durch destilliertes Wasser zersetzt und das dabei abgespaltene Haemoglobin ausgelaugt, während eine Verbindung der Kieselsäure mit dem Stroma zurückbleibt, da sie unlöslich ist, wenigstens in fast neutralen Flüssigkeiten.

Am Schlusse dieser meiner Blutversuche mit kieselsaurem Natrium füge ich der Uebersicht wegen noch folgende Tabelle bei, die uns einen gewissen Einblick in die Verschiedenartigkeit des Verhaltens verschiedener Blutarten dem kieselsauren Natrium gegenüber gestattet :

NUMMER DES VERSUCHS	BLUT von welcher Tierart	1000 C.C. Blutmischung enthalten	ERGEBNIS.	
			Ausfällung	Lösung
XXVII.	Taube	1,4 gr. kies. Natr. 2,1 » » » 0,38 » » »	völlig » teilweise	gar nicht » »
XXVIII.	Hammel	0,84 » » » 1,4 » » » 2,1 » » »	teilweise » »	gar nicht » » etwas
XXX.	Schwein	0,45 » » » 0,83 » » » 1,15 » » » 1,43 » » » 1,07 » » » 2,22 » » »	völlig » teilweise » völlig »	gar nicht » » » » » » » » » »
XXXII.	Schildkröte	1,36—4,28	völlig	gar nicht
XXXIII.	Kalb	kies. Natr. im grossen Ueberschuss	teilweise	teilweise
XXXIV.	Katze	0,71 gr. kies. Natr. 1,36 » » »	teilweise völlig	gar nicht » »
XXXVII.	Hund	1,36 » » »	völlig	gar nicht
XLI.	Katze undefibriniert	kies. Natr. im Ueberschuss	teilweise	ziemlich stark

Die im Vorstehenden besprochenen Versuche mit Blut und Serum legten den Gedanken nahe, auch die Einwirkung des kiesels. Natriums auf andere Eiweissarten, welche sich in Lösung verwenden lassen, zu versuchen. Bekanntlich erzielt man mit Ricin und Abrin z. B. bei Milch Koagulation. Warum sollte nicht auch unter der Einwirkung unseres Mittels eine Veränderung der Milch analoger Art vor sich gehen können?

5. Versuche mit Milch und einigen Eiweisspräparaten.

Versuch XLVIII. — Kuhmilch. Kieselsaures Natrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 g. kiesels. Natrium.

Zu je 10 c.c. frischer, unverdünnter Kuhmilch setzten wir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u. 8 c.c.

à 0,015 g kieselsauren Natriums. Nach 24 Stunden fanden wir die einzelnen Proben mit Ausnahme der Kontrollgläser erstarrt. Dasselbe Resultat bestand auch noch nach 48 Stunden.

Ergebnis. — Ob der Versuch bei Luftzutritt oder Luftabschluss gemacht wird, ist ohne Einfluss, immer tritt Coagulation ein. Es handelt sich dabei nicht etwa um Abscheidung gallertiger Kieselsäure durch die Kohlensäure der Luft, sondern um die Entstehung einer Verbindung von Kieselsäure mit dem Kaseïn, welche selbst bei deutlich alkalischer Reaktion des Gemisches unlöslich ausfällt. Dies steht in genauester Analogie zu der Ausfällung der Arterinverbindung der Kieselsäure, die auch selbst bei alkalischer Reaktion der Mischung unlöslich ist, und die sich auch bei Abschluss der Luftkohlensäure prompt bildet.

Versuch XLIX. — Eiweisslösung aus Hühnereiweiss. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 g kiesels. Natrium.

Zu je 10 c.c. einer 8 % igen Eiweisslösung in physiologischer Kochsalzlösung setzten wir wieder 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u. 8 c.c. à 0,015 g kiesels. Natriums.

Sofort nach dessen Zusatz zeigen die Hühnereiereiweisslösungen im Gegensatz zu den Kontrolllösungen opakes Aussehen. Nach 24 Stunden bemerkten wir in den Gläsern einen mit der Menge hinzugesetzten kieselsauren Natriums progressiv wachsenden Niederschlag bei 4—8 c.c. (= 5 ‰—6,67 ‰). Das Filtrat zeigte sich in allen Fällen selbst bis 1 c.c. hinunter (= 1,36 ‰) völlig wasserklar und in ihm konnten wir zwar Eiweiss nachweisen, aber in erheblich geringerer Menge, als in der Kontrollflüssigkeit.

Ergebnis. — Kieselsäure verbindet sich also mit einer der Eiweisssubstanzen des Hühnereiweisses zu einer auch bei alkalischer Reaktion der Mischung unlöslichen Verbindung.

Versuch L. — Sanoselösung. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 g kiesels. Natrium.

Versuchsanordnung mit einer 1 % igen Sanoselösung wie bei Versuch XLIX. Nach 24 Stunden sind die Kontrolllösungen milchiger und undurchsichtiger als die Proben, die leicht durchscheinend sind.

Ergebnis. — Es scheint also das kieselsaure Natrium ***bei der Sanose eher ein Ausfallen der Eiweisskörper zu hindern.***

Versuch LI. — Sanatogen. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 g. kiesels. Natrium.

Versuchsanordnung wie bei Versuch XLIX. Nach 24 Stunden zeigen die Kontrollgläser und die Proben der 4 % igen Sanatogenlösung das gleiche Aussehen. Kein Niederschlag ist entstanden. Das Filtrat der Kontrollgläser und der Proben ist gleich trübe.

Ergebnis. — Kieselsaures Natrium übt auf 4 %iges Sanatogen keinen Einfluss aus bis zu einem Gehalt von 6,67 ‰ an kieselsaurem Natrium.

Versuch LII. — Nutrose. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natrium.

Versuchsanordnung mit einer 4 %igen Nutroselösung wie bei Versuch XLIX. Nach 24 Stunden haben die Kontrollgläser und die Proben der 4 %igen Nutroselösung das gleiche Aussehen, alles Eiweiss bleibt in Lösung. Filtrat der Kontrollgläser und der vergifteten Proben ist gleich trübe.

Ergebnis. — Kieselsaures Natrium hat auch auf 4 %ige Nutrose keinerlei Wirkung bei einem Gehalt der Flüssigkeit an 6,67 ‰ kieselsaures Natrium.

Versuch LIII. — Plasmon. Kieselsaures Natrium fast entalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natrium.

Versuchsanordnung wie bei Versuch XLVIII bis LII mit einer 4 %igen Plasmonlösung. Nach 24 Stunden bemerkt man auch hier keinen Unterschied zwischen den Kontrollgläsern und den Proben, respektive ihren Filtraten.

Ergebnis. — Kieselsaures Natrium übt auf 4 %iges Plasmon keinerlei Einfluss aus bei 6,67 ‰ kieselsaurem Natrium.

Dieses Ergebnis sowie das bei der Nutrose berührt um so eigentümlicher, als beide im Gegensatz zu stehen scheinen zu dem Ergebnis der Milchversuche (XLVIII), bei dem anscheinend das Kaseïn in Verbindung zu der Kieselsäure trat und sich als Niederschlag absetzte. Das hätte auch der Fall sein müssen bei der Nutrose oder wenigstens beim Plasmon, das von allen Eiweisspräparaten dem Kaseïn am nächsten steht. Diese Verschiedenheit des Ausfalles beider Versuche führt uns zu der Vermutung, es könnte im Versuch XLVIII nicht etwa das Kaseïn, sondern das Serumeiweiss in der Verbindung mit der Kieselsäure ausgefallen sein. Um das zu eruieren stellten wir folgende Versuche an :

Versuch LIV. — Wir versetzten je 10 c.c. frischer ungekochter Kuhmilch mit je 1 c.c. neutraler Labessenz und brachten die Milchproben in den Brüteschrank bis sie nach einer halben Stunde geronnen waren. Nun filtrierten wir die einzelnen Proben. Das Filtrat stellt das Milchserum dar und mit diesem machten wir unsern bekannten Versuch. Wir haben somit jetzt von unserer Milch das Kasein ausgeschlossen und nur noch das Serumeiweiss zur Verfügung.

Milchserum. Kieselsaures Natrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 g. kieselsaures Natrium.

Zu 4 Proben à 10 c.c. Milchserum setzten wir 1, 2, 3 und 4 c.c. à 0,015 gr. kieselsauren Natriums. Nach 24 Stunden waren alle Proben und die Kontrollprobe gleich, nur hatten die ersteren eine gelbe Farbe angenommen, nicht aber die letztere. Ein Niederschlag war nicht erkennbar.

Unsere Annahme, dass in der Milch vielleicht das Serumeiweiss an sich die Fällung bedingt, ist also nicht richtig oder wenigstens nicht ohne weiteres beweisbar.

Hätte bei allen diesen Versuchen die Kohlensäure der Luft irgend einen Einflus auf die Ausfällung der Kieselsaure gehabt, dann müsste der folgende Versuch ein anderes Resultat geben.

Versuch LV. — Hühnereiweisslösung. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert. 1 c.c. — 0,015 gr. kiesels. Natrium. Völliger Ausschluss der Kohlensäure der Luft.

Versuchsanordnung mit einer 5 1/2 %igen Hühnereiweisslösung und Erfolg wie bei Versuch XXXVII, d. h. Ausfällung des Eiweiss trotz Abschluss des CO_2-Zutritts.

Ergebnis. — Die Kohlensäure der Luft übt auf die Ausfällung der Kieselsäure bei unsern Eiweissversuchen kienerlei Einfluss aus.

Hätte die Kohlensäure der Luft irgend einen fällenden Einfluss auf die Kieselsäure innerhalb 24 Stunden bei unsern Eiweissversuchen gehabt, dann wäre das verschiedenartige Verhalten bei der Ausfällung des Eiweisses in der Hühnereiweisslösung (LV) und der Nichtausfällung bei den andern Versuchen mit Eiweisspräparaten noch unverständlicher, da doch die Kohlensäure der Luft zu allen Proben gleichen Zutritt hatte.

VII. Verhalten des kieselsauren Natriums bei Hefeversuchen.

Versuch LVI. — Hefe. Kieselsaures Natrium, fast entalkalisiert. 1 c.c. = 0,015 gr. kieselsaures Nairium.

Zu je 10 c.c. einer Hefesuspension in physiolog. Kochsalzlösung setzten wir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8 c.c. à 0,015 g kieselsauren Natriums. Nach 24 Stunden liegt alle Hefe unverklebt am Boden wie im Kontrollglase und lässt sich überall leicht wieder aufschütteln.

Ergebnis. — Kieselsaures Natrium übt auf die Hefezellen keine verklebende Wirkung aus.

Versuch LVII. — Gärungsversuch mit kieselsaurem Natrium. 1 c.c. = 0,015 gr. kiesels. Natrium.

Zur Anstellung der Gährversuche setzten wir zu unserer kieselsauren Natriumlösung, bevor wir sie den einzelnen Gährproben zusetzten, soviel Tropfen Weinsäure, dass die gesamte Gährflüssigkeit eben sauer ward. Eine Desalkalisierung war notwendig, weil Hefe in alkalischer Lösung unwirksam bleibt. Ein geringer durch Weinsäure hervorgerufener Aciditätsgrad schadet den Gährversuchen keinesfalls. Die Versuche wurden am Einhornschen Gährungsröhrchen ausgeführt. Bei völliger Vergährung war dasselbe am Ende leer d. h. es hatte sich über 1 % Zucker in CO_2 und Alkohol verwandelt. Die Zuckerlösung war 10 %; sie ist in nachstehender Tabelle als Zlg. bezeichnet. Mehr als 1 % konnte nicht abgelesen werden.

Die Ablesungen erfolgten immer nach 24 Stunden, obwohl die Gärung zu dieser Zeit keineswegs immer beendet war.

Gährversuche mit kieselsaurem Natrium, das mit Weinsäure leicht angesäuert ist.

Datum	OHNE KIESELS. NATRIUM		MIT ZUSATZ VON KIESELSAUREM NATRIUM		
	Zuckerlösung + Wasser	Menge des vergorenen Zuckers	Zuckerlösung + kiesels. Natrium	Menge des vergorenen Zuckers	Gehalt der Mischung an kies. Nat.
5. VIII.	10 c.c. Zlg. + $7H_2O$		10 c.c. Zlg. + $6H_2O$ + 1 c.c. kiesels. Natr.		
6. »		über 1 %		über 1 %	0,088 %
6. »	10 c.c. Zlg. + $7H_2O$		10 c.c. Zlg. + $4H_2O$ + 3 c.c. kiesels. Natr.		
7. »		0,7 %		über 1 %	0,26 %
7. »	10 c.c. Zlg. + $7H_2O$		10 c.c. Zlg. + $2H_2O$ + 5 c.c. kiesels. Natr.		
8. »		0,44 %		über 1 %	0,44 %
8. »	10 c.c. Zlg. + $8H_2O$		10 c.c. Zlg. + $1H_2O$ + 7 c.c. kiesels. Natr.		
9. »		über 1 %		über 1 %	0,58 %
9. »	5 c.c. Zlg. + $15H_2O$		5 c.c. Zlg. + $13H_2O$ + 2 c.c. kiesels. Natr.		
10. »		0,64 %		über 1 %	0,15 %
10. »	5 c.c. Zlg. + $15H_2O$ + etwas Weinsäure		5 c.c. Zlg. + $11H_2O$ + 4 c.c. kiesels. Natr.		
11. »		0,7 %		über 1 %	0,30 %
11. »	5 c.c. Zlg. + $15H_2O$ + etwas Weinsäure		5 c.c. Zlg. + $9H_2O$ + 6 c.c. kiesels. Natr.		
12. »		0,44 %		0,56 %	0,45 %
12. »	5 c.c. Zlg. + $15H_2O$ + etwas Weinsäure		5 c.c. Zlg. + $7H_2O$ + 8 c.c. kiesels. Natr.		
13. »		0,64 %		über 1 %	0,60 %

Ergebnis. — Aus dieser Tabelle sehen wir, was für die Brautechnik von grossem Interesse ist, dass kieselsaures Natrium bis zu 0,62 % auf eine 5,88 %ige Zuckerlösung eher gährungsfördernd als behindernd einwirkt, und ebenso ein Gehalt von 0,60 % kieselsaurem Natrium auf 2,5 %ige Zuckerlösung. Die bis zum 10. VIII. excl. allein den mit kieselsaurem Natrium versetzten Gährröhrchen zugesetzten geringen Mengen an Weinsäure haben den Unterschied im Ausschlag der beide Gährproben nicht erzeugt, da dieser Unterschied auch noch bestehen bleibt, nachdem vom 10. VIII. inclusive beiden Röhrchen Weinsäure zugesetzt wurde. Eine Verklebung oder Ausfällung von Hefezellen findet nicht statt.

VIII. Verhalten von Tieren bei innerlicher Darreichung.

Versuch LVIII. — Vom 2. April an bekam unser schon (Versuch VIII u IX) erwähnter Versuchshund von 7,7 kilogr. Gewicht täglich 5 Pillen, deren jede 0,05 gr. kieselsauren Natriums enthielt, innerlich in Fleisch gewickelt. Diese Fütterung setzten wir täglich fort bis zum 17. April, dann gaben wir allmählich aufsteigend 10 Pillen täglich bis zum 15. Mai und von da an bis Mitte Juni täglich 15 Pillen. Dann setzten wir mit der Zufuhr von kieselsaurem Nairium aus. Somit hatte unser Hund bekommen etwa :

0,25 gr. × 17 =	4,25 gr.	kiesels.	Natrium
0.375 gr. × 28 =	10,50 gr.	»	»
0,75 gr. × 30 =	22,50 gr.	»	»
	37,25 gr.	»	»

in einem Zeitraume von 75 Tagen, das macht pro kilogr. Hund = 4,80 gr. kieselsaures Natrium. Trotzdem befand sich der Hund wohl, und frass andauernd mit guten Appetit. Irgendwelche krankhafte Veränderungen konnten wir nicht wahrnehmen.

Ergebnis. — Das kieselsaure Natrium macht also beim Hund nach innerlicher Darreichung weder eine acute noch chronische Vergiftung, wofern die Dosen 4,80 gr. pro kgr. Tier im Ganzen nicht übersteigen und wofern sich die Vergiftungsperiode über 75 Tage hin erstreckt.

Versuch LIX. — Ein Huhn bekam vom 2. April bis zum 5. Mai täglich 5 Pillen à 0,05 gr. kieselsauren Natriums. Dann stiegen wir bis zum 9. Juni auf täglich 8 Pillen, dann hörten wir auf. Somit bekam das Huhn, dessen Gewicht 1515 gr. war, im Ganzen :

0,25 gr. × 34 =	8,50 gr.	kiesels.	Natrium
0,325 gr. × 35 =	11,375 gr.	»	»
	19,875 gr.	»	»

innerhalb 69 Tagen.

Ergebnis. — Auch das Huhn befand sich bei der « Vergiftung » anscheinend stets wohl. Es legte fast täglich in der ersten Zeit ein Ei. Das kieselsaure Natrium ist also auch für das Huhn nicht giftig, sofern die Dosis 13,12 gr. pro kgr. Huhn nicht überschreitet, bei innerlicher Darreichung, und die Vergiftungsperiode sich bis zu 69 Tagen erstreckt.

IX. Verhalten der Tiere bei subkutaner Einspritzung.

Versuch LX. — Ein Kaninchen von 1700 gr. Gewicht bekam von 2 bis zum 10. April täglich eine subkutane, nicht immer sterile Einspritzung von 1 c.c. = 0,05 gr. kieselsauren Natriums. Dann liessen wir es in Ruhe, da es an den Injektionsstellen einzelne umschriebene Eiterbeulen bekam. Vom 12. Mai bis zum 15. Juni bekam es dann täglich eine Einspritzung von 2 c.c. à 0,05 gr. kieselsauren Natriums. Unser Kaninchen bekam also :

0,05 gr. × 8 =	0,40 gr.	kiesels.	Natrium
0.10 gr. × 34 =	3,40 gr.	»	»
	3,80 gr.	»	»

Auch am Kaninchen nahmen wir bis auf zahlreiche Eiterbeulen unter der Haut keine krankhafte allgemeine Veränderung wahr.

Ergebnis. — Bei subcutaner Injection verträgt ein Kaninchen eine Dosis von 3,80 gr. kieselsauren Natriums ohne wesentliche allgemeine Krankheitserscheinungen. Das macht also 2,24 gr. pro kgr. Kaninchen. Dies gilt nach unserem Versuch, sofern sich die Beibringung des Giftes erstreckt auf einen Zeitraum von mindestens 34 Tagen; falls wir die frühere Vergiftungsperiode vernachlässigen dürfen. Die lokalen Reizerscheinungen dürften wohl mit darauf zu beziehen sein, dass das Mittel ausgefällt wird und nun als Fremdkörper mechanisch reizend wirkt.

Versuch LXI. — Am 26. IV. spritzten wir 5 Winterfröschen. Esculenten, ganz kleinen Exemplaren von ca. 20—30 gr. Gewicht, je 0,05 gr. kieselsaures Natrium ein.

Anfangs lagen die Frösche bewegungslos, indessen erholten sie sich anscheinend recht bald wieder. Am andern Morgen waren zwei der Frösche wohl aus andern Gründen tot, die andern drei hatten sich völlig erholt und blieben normal.

Ergebnis. — Man kann aus diesem Versuche ersehen, das für Frösche das kieselsaure Natrium nur von geringer Giftigkeit ist. 2 gr. kieselsaures Natrium pro kgr. Frosch sind noch nicht die tödliche Dosis.

Im Harne dieser Esculenten liess sich Kieselsäure nachweisen. (Siehe Versuch XII.)

Versuch LXII. — In dem Harne eines Kaninchens von mittlerer Grösse, dem wir tags zuvor 5 c.c. à 0,015 gr. kieselsauren Natriums subcutan einspritzten, konnten wir selbst bei dieser Dosis kein Eiweiss nachweisen, weder mit den Reagenz von Spiegler noch von Esbach, noch mit Essigsäure und Ferrocyankalium, noch mit Jodkaliumquecksilberjodid. Auch am nächsten Tage ist im Harn noch kein Eiweiss.

Dieses Ergebnis ist deshalb wichtig, weil wir weiter unten sehen werden, dass Kieselfluornatrium wohl Albuminurie macht. (Siehe Versuch LXXXVIII und XC.)

X. Verhalten der Tiere bei intravenöser Einspritzung.

Versuch LXIII. — Am 26. VII. injicierten wir einer Katze von 2625 gr. Gewicht nachmittags 4 h. 45′ intravenös 10 c.c. à 0,015 gr. kieselsauren Natriums, indem wir die Injection auf eine Minute ausdehnten. Anfangs befand sich die Katze wohl, so auch noch am nächsten Abend. Am nächsten Morgen lag sie schwer krank auf der Seite. Atmung und Herzschlag waren noch normal, der Kot sehr blutig — dunkelrot. Um 9 Uhr morgens erfolgte der Tod.

Die sofortige *Sektion* ergab :

Lunge : normal.

Herz : unter dem Endocard des linken Ventrikels einige kleine Blutaustritte, sonst auch normal.

Der Magen enthalt sowohl im Fundusteil, als auch Pylorusteil einzelne bis linsengrosse, ganz frische haemorrhagische Erosionen und Haemorrhagien noch ohne Erosionen. Es werden Stücke aus dem Fundus- und Pylorusteil zum Härten fur 12 Stunden in Formalin und dann in Alkohol eingelegt.

Der Dünndarm ist gleich hinter dem Pylorus mit rötlichen Massen angefullt, die nach unten hin immer mehr zunehmen und einen rötlich-schwarzen Brei bilden, der sich in destilliertem Wasser zum grössten Teil mit Blutfarbe löst und eben hauptsächlich aus Blut besteht. Die ganze Dünndarmschleimhaut vom Pylorus bis zur Ileocoecalklappe zeigt nach unten hin an Zahl und Ausdehnung zunehmende Blutungen und flache Geschwüre. Es werden zahlreiche Stucke sämtlicher Darmabschnitte zum Härten unaufgeschnitten eingelegt.

Die Verhältnisse des Dickdarms sind ähnlich wie die des Dünndarmes, nur dass nach dem Anus zu die Menge des ergossenen Blutes und die Zahl der haemorrhagischen Stellen der Darmschleimhaut abnimmt. Auch vom Dickdarm werden Stücke eingelegt.

Die Harnblase ist gefüllt mit dunklem, blutfreiem Harn, der sich bei chemischer Untersuchung frei erweist von Formelementen, aber reich an Eiweiss und kieselsauren Salzen, welch' letztere in der Phosphorsalzperle und mit molybdänsaurem Kalium deutlich nachweisbar waren.

Die Leber ist, wie dies für die Katzenleber nicht besonders anffällt, fettreich und zeigt etwas Muskatnusscharakter. Auch von der Leber wurden Stücke eingelegt.

Milz und Nieren zeigen nichts Besonderes, werden aber auch eingelegt.

Die Lymphdrüsen des Mesenteriums sind vergrössert, auf Querschnitten markig infiltriert und zum Teil blutig. Die Katze erhielt pro kgr. Körpergewicht = 52 mgr. kieselsauren Natriums.

Die *mikroskopische Untersuchung* der einzelnen eingelegten und dann präparierten Stücke ergab folgendes :

In der Niere hochgradige Stauung in allen Gefässen der Rinde und des Markes, ferner an einzelnen Stellen infolge der hochgradigen Stauung Blutaustritte, sowohl in der Rinde, als auch im Mark. Die gewundenen und ebenso die geraden Kanäle sind im übrigen bei Betrachtung ihres Längs- und Querschnittes von fremdem Inhalte frei. Es besteht also keine Nephritis. Auch in den Kapseln der Glomeruli ist nichts Abnormes. Die Leber zeigt Stauung, die aber noch nicht alle Acini betrifft und nicht zu Blutungen geführt hat. Die Milz lässt in allen Präparaten Stauung erkennen. Im Darmkanale ist das schon makroskopisch wahrgenommene Blut auch mikroskopisch zu erkennen. Es scheint sich um diffuse Flächenblutungen aus Stauungen hervorgegangen zu handeln. Das Blut hat sich zum Teil aufgelöst, nachdem es ergossen ist. Im übrigen ist die Darmschleimhaut normal, so auch die Magenschleimhaut, bei der von den Blutaustritten nur einzelne Stellen betroffen sind.

Ergebnis. — Fassen wir die makroskopischen und mikroskopischen Befunde zusammen, so können wir sagen :

Das kieselsaure Natrium, das bei Versuchen im Reagenzglas an defibriniertem und undefibriniertem Blute die Blutkörperchen selbst bei sehr grosser Verdünnung des iftes Gagglutiniert, hat diese Wirkung auch bei direkter Einspritzung ins Blutgefässystem. Dadurch kommt es zur

Verstopfung der Kapillaren und zu Blutaustritten namentlich in denjenigen beiden Organen, die das Gift vermutlich ausscheiden und dadurch konzentrieren, das heisst in der Niere und in der Schleimhaut des Magendarmkanales. Dies steht in bester Uebereinstimmung zu den Befunden bei mit Abrin und Ricin vergifteten Tieren. Bei innerlicher Darreichung, sowie bei subcutaner Einspritzung gelangt das kieselsaure Natrium offenbar langsamer und daher viel verdünnter ins Blut und wirkt dann eben nicht mehr als Gift oder erst bei einer ausserordentlich viel grösseren, von mir nicht geprüften Dose. So interessant diese bei intravenöser Einspritzung auftretenden Erscheinungen, bei denen unsere Substanz als Blutagglutinin auftritt, auch vom Standpunkte der Pathologie und theoretischen Pharmakologie sind, für die praktische Medicin haben sie keine Bedeutung; vielmehr müssen wir auf Grund vorliegender Versuchsreihen den sich noch immer in pharmakologischen Werken findenden Satz von der Giftigkeit der Kieselsäure dahin abschwächen, dass wier sagen : Für die praktische Medecin besitzt das reine kieselsaure Natrium in Form neutralisierter Lösungen oder in Pulverform bei mässigen Dosen keine Giftigkeit. Die käuflichen Präparate des Wasserglases verdanken ihre Giftigkeit lediglich ihrem Gehalte an freier Lauge und ihrer dadurch erlangten sehr starken Alkalescenz. (In Kieselfluornatrium ist das Fluornatrium die giftige Komponente und nicht die Kieselsäure.) Die in den Nahrungsmitteln : Trinkwasser, Gemüse, Milch, Eier u. s. w. vom Menschen aufgenommenen Kieselsäuremengen sind ohne schädliche Folgen. Die Pflanzenfresser nehmen fortwährend viel grössere Mengen zu sich und bleiben ebenfalls trotzdem gesund. Wäre dieses nicht der Fall, so müssten namentlich die Vegetarier schon oft an Kieselsäurevergiftung erkrankt sein.

XI. Einiges über Kieselfluornatrium und Fluornatrium.

1. Verhalten des Kieselfluornatriums zum Blut und zur Milch.

Versuch LXIV. — Defibriniertes Schweineblut. Kieselfluornatrium, fast desalkalisiert. 1 c.c. = 0,043 gr. Kieselfluornatrium.

Zu je 10 c.c. einer 3 %igen Schweineblutkochsalzmischung setzten wir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8 o.c. à 0,043 gr. Kieselfluornatrium in fast desalkalisierter Lösung hinzu. Auch noch nach 24 Stunden war keine Aenderung und namentlich keine Verfärbung und auch keine Niederschlagsbildung eingetreten, also nicht einmal bei einem Gehalt der Blutkochsalzmischung von 17,92 ‰ Kieselfluornatrium, wie das letzte Glas ihn aufwies.

Ergebnis. — Kieselfluornatrium übt auf eine 3 %ige Schweineblutkochsalzmischung keinen Einfluss aus bis zu einem Gehalt von 17,92 ‰.

Versuch LXV. — Hühnerblut. Kieselfluornatrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 0,10 gr. Kieselfluornatrium.

Versuchsanordnung und Ergebnis wie bei Versuch LXIV. Höchste Konzentration 44,44 °/oo.

Versuch LXVI. — Schildkrötenblut. Kieselfluornatrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 0,10 gr. Kieselfluornatrium.

Versuchsanordnung mit einer 1 °/oigen Schildkrötenblutkochsalzmischung wie bei Versuch LXIV, nur setzten wir dieses Mal nur zu Proben, deren jede 19 c.c. der Blutmischung enthielt 1, 2, 3 und 4 c.c. à 0,1 gr. Kieselfluornatrium hinzu. Nach 24 Stunden sind alle Blutkörperchen wie auch bei Versuch LXIV—LXVI mitsamt denen des Kontrollblutes zu Boden gefallen, aber alle passieren das Filter.

Ergebnis. — Kieselfluornatrium übt auch auf 1 °/oiges Schildkrötenblut selbst nicht bei einem Gehalt desselben von 28 °/oo den geringsten verklebenden oder auflösenden Einfluss aus.

Versuch LXVII. — Hundeblut. Kieselfluornatrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 0,1 gr. Kieselfluornatrium.

Versuchsanordnung wie bei Versuch LXIV. Nach 24 Stunden zeigte sich in allen Gläsern in gleicher Menge ein roter Bodensatz, darüber ist die Flüssigkeit leicht rötlich und nicht lackfarben. Das Filter lässt die Blutkörperchen in allen 8 Proben passieren.

Ergebnis wie bei den vorherigen Versuchen.

Versuch LXVIII. — *Undefibriniertes* Katzenblut. Kieselfluornatrium 10 °/oig, fast desalkalisiert.

Von einer Katze liessen wir direkt aus der Ader in zwei mit einer 10 °/oigen Kieselfluornatriumlösung gefüllte Reagenzgläser Blut tröpfeln. Nach 15 Minuten bemerkten wir ganz oben eine trübe rötliche Schicht, dann im übrigen ganzen Röhrchen ein rotes feines Pulver suspendiert. Keine Gerinnung. Kein Bodensatz. Nach zwei Stunden waren am Boden geringe Blutgerinnsel bemerkbar und darüber eine undurchsichtige nichtgeronnene rote Flüssigkeitssäule, die ganz oben fast wasserklar war. Nach 10 Stunden sahen wir geringe Gerinnsel als Bodensatz, das oberste Viertel der Säule flüssig, trübe, halbklar, die untersten drei Viertel rot und undursichtig, und beim Filtrieren blieben auf dem Filter kleine Gerinnsel zurück. In dem Filtrate zeigte das Mikroskop runde nicht zusammengeklumpte Blutkörperchen, nur einzelne wenige waren zackig. Im Bodensatz erkannten wir unter dem Mikroskope viele Partien zusammengeklumpter Blutkörperchen von zackiger Beschaffenheit. Nach 30 Stunden war der Bodensatz nicht sehr vermehrt und beim Schütteln löste er sich anscheinend nicht wieder gleichmässig, sondern blieb flockig. Die untere Hälfte der Flüssigkeitssäule war undurchsichtig rot, die obere wasserklar. (Vergl. Kontrolle in physiolog. Kochsalzlösung. Versuch XLII.)

Versuch LXIX. — *Undefibriniertes* Schildkrötenblut. Kieselfluornatriumlösung 10 °/oig, fast desalkalisiert.

Einige Tropfen Schildkrötenblut direkt aus dem Tier in unsere 10 °/oige Kieselfluornatriumlösung getröpfelt, gerinnen erst zum Teil nach 3 Stunden.

Ergebnis. — Kieselfluornatrium verzögert im Ueberschuss das Gerinnen undefibrinierten Katzen- und Schildkrötenblutes.

Versuch LXX. — *Undefibriniertes* Hundeblut. Kieselfluornatrium 10 %ig fast desalkalisiert.

Frisches Hundeblut liessen wir direkt aus einer angeschnittenen Ader des Tieres in eine Schale voll 10 %iger Kieselfluornatriumlösung tröpfeln. Nach einer Stunde zeigte das Hundeblut nur sehr kleine Gerinnsel.

Versuch LXXI. — *Undefibriniertes* Froschblut. Kieselfluornatriumlösung 10 %ig, fast desalkalisiert.

Frisches Froschblut liessen wir direkt aus den Tieren in eine Schale voll 10 %iger Kieselfluornatriumlösung fliessen. Nach einer Stunde zeigten sich die gleichen leichten Gerinnsel wie beim Hundeblut in Versuch LXX.

Ergebnis. — Kieselfluornatrium verzögert zwar im Ueberschuss die Gerinnung des Frosch- und Hundeblutes über eine Stunde hinaus, kann sie aber nicht ganz hintenanhalten. Bekanntlich wirkt auch conc. Lösung z. B. von Natriumsulfat gerinnungswidrig. Es handelt sich hier also nur um eine sogen « Salzwirkung » aufs Blut.

Versuch LXXII. — Kuhmilch. Kieselfluornatrium. 1 c.c. = 0,1 gr. Kieselfluornatrium fast desalkalisiert.

Zu je 10 c.c. frischer Kuhmilch setzten wir wieder 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8 c.c. à 0,1 gr. Kieselfluornatrium. Nach 24 Stunden zeigten sich unter einem ziemlich festen Fettpfropf recht grosse, dicke Kaseïnflocken in einem flüssigen Substrat suspendiert. Der Inhalt der Kontrollgläser war flüssig und unverändert. Dasselbe Bild zeigte der Versuch auch nach 24 Stunden.

Ergebnis. — Kieselfluornatrium fördert zwischen 9,9 und 44,4 ‰ der Milch zugesetzt deren Gerinnung.

Versuch LXXIII. — Verhalten des Kieselfluornatriums bei Gärungsversuchen. Dieselben sind im Einhornschen Röhrchen angestellt. Z. = 10 %ige Zuckerlösung, Kfl. = 10 %ige Kieselfluornatriumlösung. Ablesung nach 24 Stunden.

Datum	OHNE KIESELFLUORNATRIUM		MIT KIESELFLUORNATRIUM		
	Z. + Wasser	Menge des verg. Z.	Z. + Wasser + Kfl.	Menge des verg. Z.	Konzentrat.
4. VIII.	10 Z. + $7H_2O$		10 Z. + $6H_2O$ + 1 Kfl.		5,88 % Z.
5. »		> 1 %		> 1 %	5,58 % Kfl.
14. VIII.	5 Z. + $15H_2O$		5 Z. + $13H_2O$ + 2 Kfl.		2,5 % Z.
15. »		> 1 %		> 1 %	1 % Kfl.
15. VIII.	5 Z. + $15H_2O$		5 Z. + $11H_2O$ + 4 Kfl.		2,5 % Z.
16. »		> 1 %		> 1 %	2 % Kfl.
16. VIII.	5 Z. + $15H_2O$		5 Z. + $9H_2O$ + 6 Kfl.		2,5 % Z.
17. »		> 1 %		> 1 %	3 % Kfl.
17. VIII.	5 Z. + $15H_2O$		5 Z. + $7H_2O$ + 8 Kfl.		2,5 % Z.
18. »		0,08 %		> 1 %	4 % Kfl.
18. VIII.	5 Z. + $15H_2O$		5 Z. + $5H_2O$ + 10 Kfl.		5 % Z.
19. »		0,2 %		> 1 %	2,5 % Kfl.

Ergebnis. — Auch Kieselfluornatrium befördert die Gährung einer (2,5 %igen) Zuckerlösung noch bei einem Gehalt derselben von 5 % des Salzes. Für Brauer dürfte auch diese Thatsache nicht ohne Interesse sein.

2. VERHALTEN DES FLUORNATRIUMS ZUM BLUT UND ZUR MILCH.

Versuch LXXIV. — *Defibriniertes* Hundeblut. Fluornatrium. 1 c.c. = 0,1 gr. Fluornatrium. Zu je 10 c.c. einer 3 %igen Hundeblutkochsalzmischung setzten wir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8 c.c. à 0,1 gr. Fluornatrium. Nach 24 Stunden zeigte sich ein geringer überall gleicher Bodensatz, darüber klare Flüssigkeit. Beim Filtrieren passieren alle Blutkörperchen das Filter.

Ergebnis. — Fluornatrium ist also ebenso wie Kieselfluornatrium auf defibriniertes mit Kochsalz verdünntes Blut ohne Einwirkung bis zu einem Gehalt von 44,44 ‰.

Versuch LXXV. — *Undefibriniertes* Katzenblut. Fluornatriumlösung 10 %ig. In zwei Reagenzgläser, die mit einer 10 %igen Lösung von Fluornatrium gefüllt waren, liessen wir frisches Katzenblut direkt aus einer angeschnittenen Ader des Tieres fliessen. Nach 15 Minuten sahen wir dieselbe Erscheinung wie im Versuche LXVIII mit Kieselfluornatrium; ganz oben im Gläschen eine trübe rötliche Schicht dann aber in der ganzen Flüssigkeitssäule ein rotes feines Pulver suspendiert. Nach 20 Minuten war ein geringer Bodensatz bemerkbar. Die Flüssigkeitssäule war ganz oben in geringer Schicht klar und rötlich gefärbt, die unteren vier Fünftel der Säule waren aber undurchsichtig. Nach 10 Stunden war der Bodensatz vermehrt und die obere Hälfte der Flüssigkeitssäule rötlich lackfarben, die untere Hälfte rötlich und undurchsichtig. Auf dem Filter blieb, nachdem vorher die zu filtrierende Probe umgeschüttelt worden war, kein Gerinnsel zurück. Mikroskopisch sah man die Blutkörperchen unregelmässig, aber nicht zackig. Nach 30 Stunden war ein Bodensatz vorhanden, der sich indess beim Schütteln völlig wieder löste. (Siehe Kontrollversuch XLII.)

Ergebnis. — 10 %iger Fluornatrium verhindert durch « Salzwirkung » die Fibringerinnung und löst einen kleinen Teil der Blutkörperchen auf. Eine Agglutinierung findet nicht statt.

Versuch LXXVI. — Kuhmilch. Fluornatrium. 1 c.c. = 0,1 gr. Fluornatrium.

Zu je 10 c.c. frischer unverdünnter Kuhmilch setztten wir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8 c.c. à 0,1 gr. Fluornatrium. Nach 24 Stunden war der Inhalt aller Proben noch dünnflüssig und ebenso noch nach 48 Stunden.

Ergebnis. — Fluornatrium hindert im Gegensatz zum kieselsauren Natrium und zum Kieselfluornatrium die normale Gerinnung der Milch durch Milchsäure-Bakterien. Es ist eben ein Antisepticum, wie längst bekannt ist.

3. Verhalten des Kieselfluornatriums zum Herzen.

Bezüglich des im Nachstehenden benutzten Williams'schen Apparates muss ich folgendes bemerken: Der Apparat wurde von Francis Williams (1) aus Boston im Institute des Professors Schmiedeberg in Strassburg erfunden und von Rioschiro Maki (2) und M. Perles modificiert. Seine von mir benutzte Form gab ihm Professor Kobert (3).

Mit Hülfe des Apparates ist es dem Experimentator ermöglicht, durch Einschaltung eines lebenden Froschherzens einen in sich geschlossenen Kreislauf herzustellen, dessen einzige Triebkraft das lebendige schlagende Herz ist. Zugleich erlaubt der Apparat in einfacher sinnreicher Weise jeden Augenblick die in ihm kreisende normale Blutkochsalzmischung durch vergiftetes Blut zu ersetzen und umgekehrt, in beliebig häufige Wiederholung, je nachdem man das vergiftete oder normale Blut ein- oder ausschaltet, um dem Widerpart die Bahn frei zu geben. Somit hat man in diesem Instrumente ein einfaches Mittel, die Einwirkung jedes Giftes auf das Herz ad oculos zu demonstrieren.

Das Wesentliche an dem Apparat sind zwei Kugelgefässe, deren eines die normale Blutkochsalzmischung (60 Volumina Blut und 40 Volumina Kochsalzlösung enthält, während das andere mit dem auf seine Herzwirkung zu prüfenden vergifteten Blute versehen ist. Ausserdem steht ein Ventil so im Zusammenhang mit diesen beiden Kugelgefässen, dass es nur den Weg von ihnen fort offen hält zum Herzen hin, das durch eine Kroneckersche Perfusions-Doppelwegkanüle mit diesem Ventile in wegsamer Verbindung steht. Durch diese Doppelwegkanüle führt nun ein zweites Ventil, das den Blutlauf eben nur in diesem Sinne gestattet, vom Herzen wieder weg schliesslich in einen Endschlauch, dessen Glasmundstück das wieder ausgepumpte Blut in das unvergiftete Kugelgefäss münden lässt. So wäre also ein normaler Blutkreislauf hergestellt, der ziemlich lange bestehen kann, sofern man nur das Herz vor Austrocknung schützt, zu welcher Vorsichtsmassregel der Apparat auch Gelegenheit giebt. Die Triebkraft dieses Kreislaufes ist nur das Herz, das auf den Reiz hin des auf dasselbe einwirkenden Blutdruckes zu schlagen beginnt. Natürlich ist für die Dauer dieses normalen Kreislaufes das vergiftete Blut durch eine Klemmschraube abgeklemmt. Will man nun das ver-

---

(1) Arch. exper. Path. und Pharm. 1891, 13, 1.

(2) Rioschiro Maki: *Ueber den Einfluss des Camphors, Coffeins und Alkohols auf das Herz.* Diss. Strassburg, 1889, 26, 25.

(3) Kobert: Lehrb. d. Intox., p. 123-126.

giftete Blut in Action treten lassen, dann klemmt man das unvergiftete Kugelgefäss ab und löst einfach die das vergiftete Kugelgefäss schliessende Klemmschraube. Zugleich lässt man natürlich das Endmundstück in dieses zweite Gefäss münden. Lässt man aber das aus diesem sich entleerende Blut in ein in gleicher Höhe mit den Kugelgefässen befindliches Messglas einlaufen, dann vermag man die in beliebigen Zeiteinheiten ausgepumpten Blutmengen festzustellen und damit auch das Pulsvolumen des Herzens. Ein dem Apparat beigefügtes Quecksilbermanometer erlaubt auch zu jeder Zeit einen Einblick in die absolute Kraft des Herzens.

Orientierende Blutversuchsprotokolle zu diesem Apparate siehe in Arbeiten des pharmakol. Institutes zu Dorpat, hsgbn. von R. Kobert (Stuttgart, F. Enke) an vielen Stellen.

Versuch LXXVII. — Williams'scher Apparat. Kieselfluornatrium fast desalkalisiert. 1 c.c. = 0,1 gr. Kieselfluornatrium.

Mit diesem Versuch wollen wir die Einwirkung des Kieselfluornatriums direkt auf das Herz mit Hülfe des Williamsschen Apparates und eines in ihn eingeschalteten Froschherzens festzustellen suchen. Wir mischen nach Vorschrift defibriniertes Blut mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 60 : 40. Von diesem Blutgemisch führen wir 75 c.c. in den Apparat ein. Unser Ergebnis zeigt folgende Tabelle. Wir verwandten Hundeblut.

Zeit	Puls-frequenz pro Min.	Durchgestr. Blutmenge pro Min.	Pulsvolumen in c.c.	Bemerkungen
4 h. 24'	66	5,5 c.c.	0,08	Norm. Blutkochsalzmischung ohne Giftzusatz.
4 h. 26'	66	4,2 »	0,06	} Etwas Blutung aus dem Herzen an der Kanüle.
4 h. 28'	62	3 »	0,05	
4 h. 32'	76	5 »	0,07	Jetzt besser gebunden, so dass kein Bluten mehr stattfindet.
4 h. 35'	81	5 »	0,06	
4 h. 37'	80	5 »	0,06	
4 h. 40'	65	4 »	0,06	5 c.c. à 0,1 gr. Kieselfluornatrium auf 75 c.c. Blutkochsalzmischung zugesetzt.
4 h. 42'	73	3 »	0,04	
4 h. 49'	67	2,5 »	0,04	
4 h. 51'	68	2 »	0,03	
4 h. 54'	66	> 2 »	0,03	
4 h. 58'	65	2,5 »	0,04	
5 h.	64	2,5 »	0,04	Giftblut ersetzt durch normale Blutkochsalzmischung.
5 h. 04'	65	4 »	0,06	
5 h. 06'	65	4 »	0,06	Erholung.

Trotzdem wir auch nach 5 h. 6' nur normale Blutkochsalzmischung durch das Froschherz hindurchfliessen liessen, wurden doch um 5 h. 10' die Schläge sehr klein und Blut wurde schliesslich nicht mehr ausgepumpt. Die Pulsfrequenz war dann längere Zeit 70, die Schläge wurden aber schliesslich immer kleiner und endlich trat durch Nachwirkung des Giftes Stillstand des Herzens ein.

Versuch LXXVIII. — Williams'scher Apparat. Kieselfluornatrium, fast desalkalisiert. 1 c.c. = 0,1 gr. Kieselfluornatrium.

Zeit	Puls-frequenz pro Min.	Durchgestr. Blutmenge pro Min.	Pulsvolumen in c.c.	BEMERKUNGEN.
4 h. 47′	41	4 c.c.	0.10	Normale Blutkochsalzmischung.
4 h. 49′	46	4 »	0,09	» »
4 h. 50′	40	4 »	0,10	Etwas unregelmässiger Herzschlag.
4 h. 53′	36	3,8 »	0.11	» » »
4 h. 55′	38	4,2 »	0,11	0,2 g Kieselfluornatr. : 75 c. c. Mischung.
4 h. 59′	38	4,5 »	0,12	Regelmässiger Herzschlag.
5 h. 02′	39	4,5 »	0,12	» »
5 h. 04′	38	4 »	0,11	» »
5 h. 06′	35	3,5 »	0,10	» »
5 h. 08′	38	3,5 »	0,09	» »
5 h. 12′	33	1 »	0,03	» »
5 h. 16′	34	2,5 »	0,07	Normale Blutkochsalzmischung.
5 h. 20′	31	3,5 »	0,11	Pulsfrequenz wird unregelmässig.
5 h. 22′	21			
5 h. 24′	32	4,5 »	0,14	
5 h. 28′	30	4,0 »	0,13	

Ergebnis. — Kieselfluornatrium wirkt bei einer Konzentration von 2,66 : 1000 Blutkochsalzmischung bereits abschwächend aufs Herz. *Lässt man das Gift nur wenige Minuten einwirken, so ist eine gewisse Erholung möglich. Bei grösseren Dosen erfolgt trotz scheinbarer Erholung doch noch eine giftige Nachwirkung.*

4. Verhalten des Fluornatriums zum Herzen.

Versuch LXXIX. — Anordnung des Versuches wie bei Versuch LXXVIII.

Zeit	Puls-frequenz pro Min.	Durchgestr. Blutmenge pro Min.	Pulsvolumen in c.c.	BEMERKUNGEN
11 h. 38′	55	4 1/2 c.c.	0,08	Normale Blutkochsalzmischung.
11 h. 40′	61	4 »	0,07	
11 h. 42′	60	4 »	0,07	
11 h. 45′	60	4 »	0,07	
11 h. 48′				0,2 g Fluornatrium : 75 c.c. Mischung. Nach 2 1/2 Minuten steht das Herz fast still. Als wieder normales Blut hindurchfloss, begann es sofort wieder zu schlagen.
11 h. 54′	44	4 1/2 »	0,10	Wieder vergiftetes Blut um 11 h. 54′.
11 h. 55′	41	3 »	0,07	
11 h. 57′	38	4 »	0,11	
12 h. 01′	41	3 »	0,07	
12 h. 02′	37	3 »	0,08	
12 h. 05′	37	2 1/2 »	0,07	
12 h. 07′	33	3 »	0,09	
12 h. 08′	31	2 »	0,06	
12 h. 10′	24	2 »	0,08	
12 h. 12′	22	1 1/2 »	0,07	
12 h. 14′	23	2 »	0,09	
12 h. 17′	23	> 1 »	0,04	
12 h. 19′	22	1 1/2 »	0,07	
12 h. 21′	19	1 »	0,05	

Zeit	Puls-frequenz pro Min.	Durchgestr. Blutmenge pro Min.	Pulsvolumen in c.c.	BEMERKUNGEN.
12 h. 27′	18	1 »	0,06	Wieder norm. Blutkochsalzmischung.
12 h. 33′	27	3 1/2 »	0,13	
12 h. 35′	21	3 »	0,14	
12 h. 37′	28	3 1/2 »	0,13	
12 h. 40′	30	3 1/2 »	0,11	
12 h. 45′	28	>3 »	0,11	
12 h. 46′	0	0	0	Abermals vergiftetes Blut. Herz steht nach einer Minute völlig still und ist tot.
12 h. 50′	0	0	0	

Ergebnis. — Fluornatrium wirkt bei einer Konzentration von 2,66 : 1000 Blutkochsalzmischung rasch giftig auf das Froschherz. *Entfernt man sofort das Gift, so ist eine gewisse Erholung möglich.*

5. Wirkung des Kieselfluornatriums auf Frösche.

Versuch LXXX. — 3 frisch eingefangenen Fröschen, und zwar Eskulenten, von ca. 25 gr. Gewicht wurden jedem 1 c.c. unserer desalkalisierten Kieselfluornatriumlösung subkutan injiciert. (1 c.c. = 0,04 gr. Kieselfluornatrium).

Am nächsten Morgen befanden sich die Frösche völlig wohl.

Ergebnis. — 1,6 gr. Kieselfluornatrium pro kgr. Frosch ist für diese Tierart noch keine tödliche Dosis.

Versuch LXXXI. — 3 Fröschen von 20, 25 und 25 gr. injicierten wir jedem 0,1 gr. Kieselfluornatrium. Nach 6 Stunden lagen die drei Frösche ziemlich regungslos da und reagierten fast nicht mehr auf Berührung. An den Extremitäten sah man beständige tonische Muskelzuckungen. Bei der Sektion zeigte sich, dass das Herz des einen Frosches vollkommen stillstand und auch auf Berührung nicht mehr reagierte. Das Herz des zweiten Frosches stand auch still, antwortete aber noch auf mechanische Reizung mit einigen Schlägen und unregelmässigen Zuckungen. Das Herz des dritten Frosches schlug noch ungestört fort.

Versuch LXXXII. — Wieder injicierten wir 3 Eskulenten von mittlerer Grösse, die frisch eingefangen waren, jeden 1 c.c. = 0,1 gr. Kieselfluornatrium. Alle drei Frösche sind am nächsten Morgen tot. Ihr Herz steht völlig still und reagiert auf keinen Reiz mehr.

Versuch LXXXIII. — Am 26. VII. gaben wir mittags 1 Uhr zwei Fröschen von ca. 30 gr. Gewicht jedem 0,1 gr. Kieselfluornatrium. Um 5 1/2 Uhr nachmittags machten alle beide einen schwerkranken Eindruck. Beiden lagen lang ausgestreckt am Boden und zeigten an den Extremitäten ununterbrochen fibrilläre Zuckungen. Beide waren durch verschluckte Luft aufgebläht. Am nächsten Morgen zeigten sich beide Frösche fast reaktionslos und lagen völlig still. Beide hatten, wie auch schon gestern, am Tage der Vergiftung noch immer fibrilläre Zuckungen und entliessen auf Druck mit der Hand reichlichen Harn, in dem wir nach der bekannten Vorbereitung mit der Phosphorsalzperle und mit molybdänsaurem Kalium Kieselsäure nachweisen konnten. Ebenso

vermochten wir auch Eiweiss im Froschharn nachzuweisen. Am 30. VII, also am vierten Tage nach der Vergiftung, hatten sich beide Frösche wieder völlig erholt.

Ergebnis der drei letzten Versuche. — Die Dosis von 0,1 gr. Kieselfluornatrium pro 30 gr. Frosch ist die höchste, die von kräftigen Tieren allenfalls überstanden wird. Sie veranlasst aber schwere Vergiftung, die sich ausspricht in intensiven Muskelzuckungen, Aufheben der willkürlichen Bewegung und in Albuminurie. Die Vergiftung verläuft letal, wenn mehr als 3,33 gr. Kieselfluornatrium pro 1 kgr. Frosch gegeben wird.

6. Wirkung des Fluornatriums auf Frösche.

Versuch LXXXIV. — Um zu eruieren, ob die Vergiftungserscheinungen unserer mit Kieselfluornatrium vergifteten Frösche dem Fluornatrium allein zuzuschreiben sind, injizierten wir 2 Fröschen von ca. 20 gr. Gewicht jedem 0,1 gr. Fluornatrium. Gleich nachher sind beide Frösche schwer krank. Sie bekamen Zuckungen an den Extremitäten und starben in der Nacht.

Im Darm und Magen fanden sich keine Blutungen, das Herz stand reaktionslos still.

Versuch LXXXV. — Zwei Fröschen gaben wir je 0,05 gr. Fluornatrium subcutan. Nach 2 Stunden sind beide tot. Das Herz reagiert auf keinen Insult mehr.

Versuch LXXXVI. — Zwei Fröschen von 20 und 25 gr. gaben wir jedem 0,025 gr. Fluornatrium morgens 11 1/2 Uhr. Am nächsten Tage nachmittags um 6 Uhr waren beide Frösche völlig gesund. Sie lagen gleich nach der Vergiftung mit ausgestreckten Extremitäten für mehrere Stunden still und zeigten auch leichte Zuckungen an den Extremitäten. Am nächsten Morgen waren diese Krankheitserscheinungen schon völlig verschwunden.

Versuch LXXXVII. — Einem Frosche von ca. 18 gr. Gewicht gaben wir abends 5 1/2 Uhr 0,04 gr. Fluornatrium. Nach einer halben Stunde war er tot und sein Herz stand reaktionslos still.

Ergebnis der letzten vier Versuche. — Während die für Frösche tötliche Dosis für Kieselfluornatrium noch 3,33 kgr. Frösch übersteigt, ist sie für Fluornatrium schon erreicht bei 2,22 gr. pro kgr. Frosch. Wir müssen daraus schliessen, dass die Kieselsäure im Kieselfluornatrium dessen Giftigkeit herabsetzt. *Das die Giftigkeit Bedingende ist die Fluorkomponente.*

7. Wirkung des Kieselfluornatriums auf Warmblüter.

Versuch LXXXVIII. — Einem Igel von 700 gr. Gewicht gaben wir am 20. VII. mittags subcutan 2 c.c. à 0,1 gr. Kieselfluoruatrium.

Am nächsten Morgen befand sich der Igel noch völlig wohl. Im Harn konnten wir einen langsam erscheinenden geringen Eiweissniederschlag mit Hülfe des Spieglerschen Reagenzes, von Essigsäure + Ferrocyankalium und von Jodkaliumquecksilberjodid nachweisen.

Am folgenden Tage, also am 21. VII., war kein Eiweiss mehr im Harn nach-

weisbar, der Harn zeigte sich jedoch alkalisch, während er normalerweise sauer ist. Das Tier hatte eben das Fleisch unberührt gelassen.

Am 24. VII. bekam der Igel 0,4 gr. Kieselfluornatrium.

Am 25. VII. zeigte der Harn bedeutende Eiweissmengen mit Jodkaliumquecksilberjodid und mit Essigsäure + Ferrocyankalium versetzt.

Am 26. VII. gab das Befinden des Igels zu keinerlei Äusserungen Anlass. Noch liess sich im Harn mit dem SPIEGLER'schen Reagenz, mit Jodkaliumquecksilberjodid und mit Essigsäure + Ferrocyankalium Eiweiss recht deutlich nachweisen.

Auch noch am 27. VII. zeigte der Harn deutlich Eiweiss, reagierte aber sauer.

Am 30. VII. noch konnten wir, trotzdem dies schon der sechste Tag nach der Vergiftung war, im Harne unseres Igels mit den Reagenzien von SPIEGLER, von ESBACH und mit Jodkaliumquecksilberjodid etwas Eiweiss erkennen.

Am 1. VIII. gaben wir dem Igel subcutan 0.6 gr. Kieselfluornatrium. Am 2. VIII. wurden wieder bedeutende Eiweissmengen im Harne nachgewiesen mit SPIEGLER, ESBACH und Jodkaliumquecksilberjodid. Mit Hülfe der Phosphorsalzperle und mikrochemisch konnten wir im Igelharn auch Kieselsäure nachweisen.

Am 6. VIII. bekam unser Igel 1 gr. Kieselfluornatrium. Am nächsten Tage, dem 7. VIII., machte er trotz bedeutender Albuminurie, nachgewiesen durch ESBACH, SPIEGLER, Jodkaliumquecksilberjodid und durch Essigsäure + Ferrocyankalium, noch einen relativ gesunden Eindruck.

Am Mittag des 7. August 11 Uhr bekam der Igel 1,5 gr. Kieselfluornatrium und damit die tötliche Dosis, denn nachdem er schon längere Zeit annähernd bewegungslos in einer Ecke des Kastens gekauert hatte, starb er am 8. VIII., zwischen 11 und 12 Uhr mittags.

Die nach 24 Stunden, am 9. VIII. vorgenommene *Sektion* ergab Folgendes :

Magen mit blutiger Flüssigkeit gefüllt. Schleimhaut durchweg stark gerötet. Im Dünndarme ebenfalls blutige Verfärbung des Inhaltes. Der Harn war klar und zeigte unter dem Mikroskope kleine gekörnte Cylinder. Eiweiss wiesen wir in ihm mit den Reagenzien von SPIEGLER, ESBACH und mit Jodkaliumquecksilberjodid nach. Die Galle war rötlich verfärbt. Die Nieren zeigten makroskopisch nichts Besonderes. Von der Leber und Nieren wurden Stücke zum Härten in Formalin gelegt.

In sämtlichen Schnitten mehrerer Stücken der Leber zeigt die mikroskopische Betrachtung zahlreiche z. T. rundliche Herde, oft von der Grösse eines halben bis ganzen Lobulus, oft auch kleiner, welche vom umgebenden normal färbbaren Gewebe dadurch abstechen, dass sie in der Peripherie ungefärbt bleiben, man möge färben, womit man wolle. Nur das Centrum derselben färbt sich, und zwar auffallend stark. Dieses Centrum entspricht aber nicht etwa der Lebervene, sondern scheint eine beliebige Stelle sein zu können. *Die Herde sind offenbar nekrotisch und daher strukturlos :* jedenfalls sind in ihnen sowohl die Leberzellen als deren Kerne zu Grunde gegangen. In der Niere sind kleine Blutaustritte ins Gewebe und sehr vereinzelt nur hyaline und feinkörnige Cylinder.

Versuch LXXXIX. — Am 17. VIII. bekam ein Igel von 800 gr. Gewicht 14 c.c. à 0,1 gr. Kieselfluornatrium, also 1,8 gr. pro kgr. Am 25. VIII. war der Igel tot. Die mikroskopische Untersuchung der zum Härten eingelegten Organstückchen zeigte Folgendes, was z. T. auch schon makroskopisch sichtbar war.

Im Magen zahlreiche Blutaustritte, in denen alle Blutkörperchen zu Grunde

gegangen sind. Man sieht nur eine homogene schwarz-braune Masse, welche die Schleimhaut in ihrer ganzen Dicke durchsetzt.

Die Niere zeigt 1) zahlreiche Blutaustritte, 2) hie und da Exsudate in den sehr erweiterten Kapseln der Glomeruli, 3) in vielen geraden und gewundenen Kanälchen sogen. Tröpfchen in ganz ausgezeichneter Schönheit; 4) manchmal finden sich Cylinder, welche teils aus Epithelien, teils aus Tröpfchen bestehen.

Die Leber zeigt zerstreute, aber in allen Präparaten nachweisbare Inseln oder Herde, welche offenbar pathologische Gebilde sind und als Anfangsstadien von Nekrosen gedeutet werden können, welche das Kieselfluornatrium im vorigen Versuche hervorbrachte. Sie sind hier nur weit weniger intensiv.

Ergebnis. — Kieselfluornatrium erzeugt beim Igel Albuminurie, Nephritis und eine eigentümliche herdförmige Leberdegeneration. Die tötliche Dosis liegt zwischen 1,43 und 2,14 gr. Kieselfluornatrium pro kgr. Tier.

Versuch XC. — Einer *Katze* von 2520 gr. Gewicht gaben wir am 20. VII. 1,5 gr. Kieselfluornatrium subcutan. Am 21. VII. befand sie sich noch völlig wohl. In ihrem Harn zeigte sich mit dem Spieglersschen Reagenz, mit Jodkaliumquecksilberjodid und mit Essigsäure + Ferrocyankalium reichlich Albumin. Am 22. VII. war kein Eiweiss mehr im Harne, der stark alkalisch war, trotzdem er doch normalerweise sauer ist.

Am 24. VII. bekam die Katze wieder 2 gr. Kieselfluornatrium.

Am 25. VII. zeigte der Harn wieder Eiweissgehalt, nachgewiesen mit Jodkaliumquechsilberjodid und Essigsäure + Ferrocyankalium. Der Eiweissniederschlag trat aber erst nach längerer Zeit ein.

In der Nacht von 26. auf den 27. VII. entsprang die Katze. Wir können daraus wohl zum Wenigsten entnehmen, dass sie sich körperlich ganz wohl befand. Nach zwei Tagen fand sie sich wieder ein. Sie blieb normal. Es hatte ihr also eine Menge von 2 gr. Kieselfluornatrium nicht geschadet.

Ergebnis. — Kieselfluornatrium erzeugt auch bei der Katze Albuminurie, ist aber noch nicht tödlich bei 0,98 gr. pro kgr. Katze, subcutan verabfolgt.

8. Wirkung des Fluornatriums auf Warmblüter.

Versuch XCI. — Einem *Kaninchen* von 1200 gr. Körpergewicht gaben wir am 2. VIII. 0,2 gr. Fluornatrium. Am 3. VIII. zeigte der Harn mit den Reagenzien von Spiegler, von Esbach, mit Jodkaliumquecksilberjodid und mit Essigsäure + Ferrocyankalium kein Eiweiss.

Am 3. VIII. gaben wir dem Kaninchen subcutan 0,4 gr. Fluornatrium. Am nächsten Tage war im Harn wieder kein Eiweiss.

Am 10. VIII. starb das Tier, ohne dass wir ihm neue Fluornatriummengen zugeführt hatten.

Die *Obduktion*, die am 10. VIII. morgens vorgenommen wurde, ergab etwa 15 bis linsengrosse hæmorrhagische Magengeschwüre. Sonst war makroskopisch alles normal. — Der Harn war von hellgelber Farbe und sauer, er enthielt zahllose epitheliale und andere Cylinder und im Filtrat sehr viel Eiweiss, aber kein Blut.

Der *mikroskopische* Befund zeigt folgendes :

In der Niere in gewundenen Kanälen, ferner in Sammelröhren und in Henleschen Schleifen zahlreiche, meist hyaline Cylinder; in den Sammelröhren auch epitheliale und körnige. Glomeruli intakt. In der Rinde einzelne Blutungen.

Leber : normal, wenigstens scheinbar. Allerdings wurden nur zwei Stückchen zur Untersuchung verwendet.

Im Magen ein die Mucosa tief durchsetzendes hamorragisches Ulcus im Schnitt zu sehen, welches offenbar ganz frisch ist, da Reaktionerscheinungen noch fehlen Das Blut ist im Gebiete des Ulcus tiefgreifend zersetzt zu Hæmatin und sieht ganz schwarz selbst bei mikroskopischer Vergrösserung aus.

Versuch XCII. — Am 10. VIII. bekam ein *Kaninchen* von 2000 gr. Gewicht 0,9 gr. Fluornatrium subcutan eingespritzt. In der Nacht vom 12 auf den 13. VIII. starb es.

Die *Obduktion* zeigte wieder im Magen Geschwüre und zwar 20 zum Teil grosse hæmorragische. Der *Harn* der Harnblase zeigte auf die Reagenzien von SPIEGLER und ESBACH, auf Jodkaliumquecksilberjodid und auf Essigsäure + Ferrocyankalium auffallende Mengen von Eiweiss sowie zahlreiche Cylinder.

Mikroskopisch sieht man im Magen zahlreiche Blutaustritte in die Schleimhaut. Die Farbe derselben ist auch bei mikroskopischer Betrachtung schwarz-braun; einzelne Blutkörperchen sind nicht zu erkennen, vielmehr scheinen alle aufgelöst und in Hæmatin umgewandelt zu sein. Die schwarze Masse durchsetzt die Schleimhaut in ihrer ganzen Dicke. Die obersten Schichten ulcerös angenagt von den Verdauungssäften. Das Blut in den Gefässen der Magenwandung ist normal.

Leber : stellenweis die Kerne weniger gut tingierbar, aber noch vorhanden. Einzelne Blutaustritte ins Gewebe. In den Leberzellen sind vereinzelt gelbbraune Pigmentkörnchen.

Niere : in den Sammelröhren epitheliale Cylinder in grosser Menge. In der Rinde sind die Kanälchen teilweise degeneriert, unfärbbar, mit sehr undeutlichen oder ganz fehlenden Kernen. Zahlreiche Blutaustritte ins Gewebe.

Ergebnis der beiden letzten Versuche. — Das Fluornatrium hat selbst bei subcutaner Einführung auf den Magen eine schwer schädigende Einwirkung. Ausserdem macht es, wie schon von anderen Autoren gefunden worden ist, Nephritis. Die beim Kieselfluornatrium so auffallenden Veränderungen der Leber traten vielleicht zufällig beim Fluornatrium weniger hervor. Sie sind in unserm Institute von meinem Kommilitonen CARLAU sowohl was Fluornatrium als was Kieselfluornatrium und viele andere Stoffe anlangt, mittlerweile weiter untersucht worden. Der Bericht darüber wird ebenfalls in diesem Archiv erscheinen.

Zum Schluss erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr KOBERT für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit und für das ihr entgegengebrachte Interesse meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

SCHLUSSBEMERKUNGEN

von Prof. KOBERT.

Die Frage, ob *kieselsaures Natrium* pharmakotherapeutisch verwendbar ist, durfte bisher eigentlich überhaupt nicht am Menschen geprüft werden, weil immer noch einzelne hochangesehene Gelehrte wie v. VOGL in Wien für die Giftigkeit desselben eintraten. Erst durch die vorliegende Arbeit ist die relative Ungiftigkeit des Mittels bei innerlicher Eingabe erwiesen und damit die Vorbedingung für Versuche am Menschen erfüllt. Est ist daher an der Zeit zu überlegen, *welche Krankheiten etwa zur Behandlung mit Natrium silicicum purissimum* (1) *sich eignen könnten.* Mir scheinen die folgenden vielleicht in dieser Hinsicht Berücksichtigung zu verdienen.

1. Bei *Säurevergiftung* zur Abstumpfung des sehr sauren Magendarminhaltes benutzt man ja in praxi meist kohlensaure Alkalien. Indessen ist die nach Eingabe dieser sich entwickelnde CO_2 höchst lästig, ja unter Umständen lebensgefährlich, da sie Rupturen des Magens herbeiführen kann. Besser ist daher Magnesia usta, deren Unlöslichkeit jedoch bei der Darreichung Schwierigkeiten macht. Das kiesels. Natrium ist leicht löslich und wirkt seiner erheblichen Alkalescenz wegen ganz gut säuretilgend. Der dabei entstehende gallertige Kieselsäureniederschläg hüllt die angeätzte Magenschleimhaut etwas ein und wirkt wie ein Mucilaginosum.

2. Bei *vermehrter Säurebildung im Magen* kann man entweder dem Magenspülwasser kiesels. Natrium zusetzen oder KUNSTMANN'sches Wasser (1,0 kiesels. Natrium auf 1 Liter CO_2-Wasser) als Tafelwasser trinken lassen.

3. Bei *Säurediabetes* ist dieses Wasser als Tafelwasser ebenfalls verwendbar.

4. Von *Gichtikern* wird es auf Veranlassung von Senator KUNSTMANN hier in Rostock zur Verminderung der sauren Diathese vielfach und gern genommen.

Bei allen diesen vier Indikationen handelt es sich fast nur um die Ansnutzung der unserm Salze zukommenden Alkalescenz. Das Salz ist aber auch selbst in neutralisierten Lösungen verwendbar.

---

(1) Das gewöhnliche käufliche ist, wie wir oben sahen, giftig.

5. Wir haben S. 236 erfahren, dass die Schuppen der Haut bei Ichthyose relativ reich an Kieselsäure sind. Wir dürfen wohl daraus schliessen, dass diese Säure bei Hyperkeratosen mit im Spiele ist, und werden sie daher bei dieser Krankheitsgruppe als kontraindiciert betrachten, aber umgekehrt *in Fällen mangelhafter Hornhautbildung* unser Mittel empfehlen, um entweder die reichliche Bildung verhornender Epidermis anzuregen oder um die Resistenzfähigkeit der Hornschicht zu erhöhen. Ich möchte die Herrn Dermatologen auf diesen Punkt besonders hinweisen.

6. Noch wichtiger scheint mir die *Beziehung der Kieselsäure zum Bindegewebe und zwar speciell der Lunge* zu sein. Der pathologische Anatom und der Lungensanatoriumsarzt unterscheiden bekanntlich zwei Formen der Phthisis pulmonum, die Zerfallsphthise und die fibröse Phthise. Erstere giebt eine schlechte Prognose, letztere eine bessere. Als Director der Brehmerschen Lungenheilanstalt zu Görbersdorf habe ich nun unablässig nachgesonnen, welches unschädliche Arznei- oder Nahrungsmittel man wohl den Kranken lange Zeit hindurch bequem reichen könne, um dem Zerfalle vorhandener tuberkulöser Lungeninfiltrate vorzubeugen und *die Bildung haltbarer fibröser Narben* herbeizuführen. Bei Durchsicht aller überhaupt vorhandenen Stoffe blieben meine Gedanken nur bei zweien haften, nämlich beim Kalk und bei den Kieselsäurepraeparaten. Unter dem Einfluss der Vorstellung, dass kranke Lungenstellen durch Verkalkung ausheilen können, ist bekanntlich Lippspringe ein sehr berühmter Lungenkurort geworden. Wir sind von der Vorstellung, dass Trinken kalkreicher Quellwässer den tuberkulösen Lungenprozess günstig beeinflusse, auf Grund vieljähriger Prüfung durch die hervorragendsten Kliniker allerdings zurückgekommen. Die Verkieselungstheorie ist aber noch nie genauer geprüft worden, obwohl sie eines eben so sorgfältigen Studiums durch die Lungenspecialisten wert ist als die Verkalkungstheorie. Es ist nicht undenkbar, dass kieselsäurereiches Bindegewebe haltbarer ist als kieselsäurearmes. Durch die erst nach meiner Görbersdorfer Zeit erschienene, S. 235 erwähnte Arbeit von H. SCHULZ, wonach gerade das Bindegewebe zur Kieselsäure in der That die längst vermutete intime Beziehung hat, ist mir die Berechtigung meiner damaligen Ueberlegungen von Neuem klar geworden. Da ich durch meine Wegberufung von Görbersdorf an der Ausführung von Vorversuchen an vielen geeigneten Patienten verhindert worden bin, habe ich gleich nach Abschluss unsere Tierversuche meinen Görbersdorfer Kollegen, Herrn Director Dr WEICKER, ersucht die Vorversuche an Menschen in die Hand zu nehmen. Ich habe ferner die

Veröffentlichung dieser Zeilen ein ganzes Jahr hinausgeschoben, um ihm Zeit für solche Vorversuche zu lassen. Ich möchte auch jetzt nur so viel sagen, dass *die Unschädlichkeit der Darreichung an Menschen in Dosen von 1—2 Gramm pro die (in CO_2-Wasser) jetzt zur Genüge klar gestellt ist.* Ob therapeutische Resultate durch die Behandlung Schwindsüchtiger mit Natrium silicicum purissimum erzielbar sind, darüber wird Kollege WEICKER selbst zur rechten Zeit Bericht erstatten.

Was die *Fluorverbindungen* anlangt, so besteht neuerdings die Tendenz sie bei Erkrankungen der Lunge zu verwerten. So wird z. B. das *Antitussin* (5 % Difluordiphenyl + 10 % Vaseline + 85 % Wollfett) von MAX HEIM (1) bei *Keuchhusten* warm empfohlen; Hofrat STEPP (2) empfiehlt die Behandlung der *akuten Pneumonie* mit *Fluoroform; Aqua fluoroformata* (mit 2,8 % Fluoroform) soll in Dosen von 5 mal 1 Theelöffel die *Tuberkulose* heilen, und die im vorigen Jahre patentierten *mit Fluor substituierten Eiweisskörper* sollen ausser gegen *Schwindsucht* auch noch gegen *andere Krankheiten* Verwendung finden etc. Grund genug um mit Rücksicht auf vorstehende Arbeit zunächst wenigstens die Lungenspecialisten aufs Eindringlichste vor diesen sowohl äusserlich als innerlich bedenklichen Mitteln zu warnen, ehe Albuminurie, Nephritis, Magengeschwüre und Leberdegeneration nach innerlichem und ausgedehnte Hautgeschwüre nach äusserlichem Gebrauchen bei den Patienten solcher leichtgläubigen Aerzte werden hervorgerufen worden sein. Ob es möglich ist durch Darreichung ganz kleiner Mengen von *Kieselfluorkalium bei Kindern* unter Milch *die Entwicklung normaler Zähne und namentlich des bei Rachitis oft so mangelhaften Schmelzüberzuges* derselben zu fördern, ist eine noch offene Frage, deren vorsichtige Prüfung die Kinderspecialisten und Zahnspecialisten in die Hand nehmen mögen.

Rostock, September 1901.

---

(1) Berliner klin. Wochenschr., 1899, Nr 50 und Therap. Beilage der Deutschen med Wochenschr. vom 27 Sept. 1900, p. 36.

(2) *Die Behandlung der akuten Pneumonie mit Fluoroform.* Mit 53 Kurven. Leipzig, 1901.

Aus dem Institute für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock (Director Prof. R. Kobert).

Ueber das Cinchonamin

von

Magister W. ELLRAM.

Die nachstehende Schrift ist schon vor einer Reihe von Jahren entstanden, wurde aber aus Gründen, welche ich hier nicht erörtern möchte, erst jetzt, und zwar in St. Petersburg, als deutsche Dissertation zugelassen.

Die vielseitig wichtigen Eigenschaften des erst seit ca. 20 Jahren bekannten Alkaloides Cinchonamin haben mit Recht das lebhafteste Interesse in den verschiedensten wissenschaftlichen Kreisen wachgerufen. Die ganze Chemie bietet zur Zeit kaum Analoga für die Eigentümlichkeit der grossen Schwerlöslichkeit des salpetersauren Salzes dieser Base in Wasser resp. in säurehaltigem Wasser, und dürfte daher die praktische Verwendbarkeit dieser Eigenschaft stets ein bedeutsames Moment für wissenschaftliche Forschungen auf analytischer Grundlage bilden, obschon meine botanisch-physiologischen Untersuchungen (1) in der Hinsicht für die botanische Mikrochemie keine besonders erfreulichen Resultate bieten.

Nachdem die erste für Pharmakologen bedeutsame Arbeit über das Cinchonamin von Laborde (1) 1882 erschienen war, welcher Autor auf Grund physiologischer Versuche gefunden hatte, dass die Wirkung des Cinchonamin der des Chinins sehr ähnlich sei, nur viel heroischer, wurde das Cinchonamin, ungeachtet seines zunächst noch sehr hohen Preises, bald in einigen Gegenden Frankreichs und Italiens in die praktische

(1) Vergl. W. Ellram : *Ueber mikrochemischen Nachweis von Nitraten in Pflanzen*, Sitzungsberichte der Dorpater Naturforscher-Gesellschaft, 1895, p. 105.

Medizin eingeführt. So haben z. B. Sée und Bochefontaine (2) die therapeutische Wirkung des Cinchonamin gegen Malaria in ungesunden Sumpfgegenden der französischen Kolonien einigen Versuchen unterworfen und sprechen, indem sie die viel heroischere Wirkung des Cinchonamin vor der des Chinins betonen, mit anderen Autoren die Vermutung aus, dass unter den vielen Chinaalkaloiden das Cinchonamin wahrscheinlich berufen ist, neben dem Chinin in absehbarer Zeit eine grosse Rolle in der therapeutischen Medizin zu spielen. — Aus Italien liegt uns eine Arbeit Marcacci's (3) vor, der ebenfalls physiologische Versuche angestellt hat und sowohl die heroischere und wenigstens 10 Mal stärkere Wirkung des Cinchonamin vor der des Chinins betont, als auch, gleichwie Laborde (1) sowie Sée und Bochefontaine (2), auf die Reizwirkung des Mittels auf die Gehirnkrampfzentren hinweist. Ausserdem stellt genannter Autor eine intensive gärungswidrige Wirkung des Cinchonamin fest.

Die wichtigen Resultate der interessanten Untersuchungen genannter Autoren regten nun energisch zu weiteren Specialforschungen auf diesem Gebiete an, und habe ich mich daher mit Freuden der Aufforderung Prof. Koberts unterzogen, die Wirkungsweise des Cinchonamin eingehender zu studieren. Obwohl physiologisch-pharmakologische Versuche mir eigentlich ferner liegen, und ihre experimentelle Ausführung anatomische und physiologische Vorkenntnisse voraussetzt, deren ich mich persönlich nicht rühmen darf, so mussten doch auch sie zum Zweck eines gründlichen Studiums des Giftes notwendigerweise gemacht werden; vom Standpunkte unserer Specialität als Gerichtschemiker versteht solches sich von selbst. Da nun diese Versuche zum Teil recht interessante Ergebnisse lieferten, scheint es mir voll berechtigt auch die beobachteten physiologischen Wirkungen mit anzuführen. Eine erschöpfende physiologische Analyse der Wirkungen will ich damit natürlich nicht geben.

Ferner war es in Hinsicht der toxischen Eigenschaften des Cinchonamin von grosser Wichtigkeit und, wenn man die stattgehabte Einführung des Mittels in die Therapie berücksichtigt, hohe Zeit das Gift in seinem Verhalten bei gerichtlich-chemischen Untersuchungen kennen zu lernen, weshalb auch dieser Teil meiner Arbeit eine recht spezielle Berücksichtigung gefunden hat. Dass letzteren Forschungen das Auffinden charakteristischer Reaktionen für das Alkaloid vorausgehen musste, war selbstverständlich. Im übrigen habe ich noch versucht den Sitz der Alkaloide in der Cortex Remijiae Purdieanae, also der Rinde, die das Cinchonamin enthält, festzustellen, wobei ich mit dem anatomischen Bau der Rinde näher bekannt wurde.

I. Ueber Cortex Remijiae Purdieanae.

1. Botanisch-pharmakognostisches

Die Gruppe « Remijiae » der Cinchoneen zeichnet sich aus durch den langgestielten, blattwinkelständigen, unterbrochenen Blütenstand, die mit Papillen bekleideten Abschnitte der Blumenröhre und die zwei- oder vierklappig aufspringenden, an der Spitze sich öffnenden Kapseln. Sie wurde den Brasilianern zuerst von dem Chirurgen « Remijo » aus Ouro Preto, der Hauptstadt der Provinz Minas geraes, als Quina de Serra, Bergchina, empfohlen, woher sie den Namen erhalten.

Nach Hesse (5) kam mit zunehmender Importation der China cuprea 1881 unter dem gleichen Namen in oft nicht unerheblichen Posten eine Rinde in den Handel, welche sich bezüglich des anatomischen Baues der wirklichen China cuprea näherte, aber in Hinsicht der Qualität ihrer Alkaloide erheblich davon unterschied.

Ueber die botanische Abstammung beider Rinden war man völlig im Unklaren, bis Triana (4, 13) zeigte, dass die wirkliche China cuprea von Remijia pedunculata abstammt, die andere Rinde aber von Remijia Purdieana, einem Strauch, der nach seiner Entdeckung bei *Canvas* in der Provinz Antioquia von dem damaligen Gartendirektor auf Trinidad « Purdie », von Weddell (22) beschrieben worden ist. Der Strauch charakterisiert sich durch langgestielte, in den Blattwinkeln gegenständige Rispen, deren Verzweigungen rostfarbigen Filz tragen. Die Blumenröhre ist eng und die aussen flaumhaarige Corolle von derber Konsistenz.

Nach Triana (4) wächst die Remijia Purdieana in den Wäldern der columbischen Provinz Antioquia, die Remijia pedunculata dagegen in der Republik Columbia am Ostabhange der Cordilliere von Bogota und im Gebiete des oberen Orinoco.

Nach Hesse (5) dürfte der Hauptimportplatz für beide Rinden das in der columbischen Provinz Santander gelegene Bacaramanga sein. Da beide Spezies grosse Aehnlichkeit mit einander haben, so dass leicht eine Verwechslung der beiden Rinden von Seiten der betreffenden Rindensammler oder unwissender Händler stattfindet, so trifft man nach Hesse (5) bisweilen beide Rinden zusammen verpackt im Handel an, eine Thatsache, die der kundige Pharmakognost mit Leichtigkeit feststellt, insbesondere seit eine solche Autorität wie Flückiger (6, 41) den anatomischen Bau der China cuprea eingehend beschrieben hat.

In der Cortex Remijiae Purdieanae entdeckte Arnaud (7) 1881 das Cinchonamin und Hesse (8) fernerhin noch 5 andere Alkaloide, die er mit

Concusconin, Chairamin, Conchairamin, Chairamidin und Conchairamidin benannte; ausserdem enthält die Rinde noch Cinchonin. Die 6 erstgenannten Alkaloide kommen weder in der echten China cuprea oder der Rinde von Remijia pedunculata, noch in den wirklichen Chinarinden vor. Nur scheinen nach Hesse (5) gewisse Beziehungen zwischen einigen dieser Alkaloide und den wirklichen Chinaalkaloiden zu bestehen, nämlich zwischen Cinchonamin und Cinchonin, während er das Concusconin, Chairamin und seine Isomeren als zu einer ganz anderen Alkaloid-Gruppe gehörend bezeichnet. Den Gehalt der Cort. Remijiae Purdieanae an Alkaloiden insgesamt giebt Hesse (5) mit 2 bis 3 p. C. im Durchschnitt an und an Cinchonin mit 0,1 bis 0,2 p. C. Arnaud (14) giebt an, dass die Rinde 0,8 bis 1,0 p. C. Cinchonin enthalte und 0,2 p. C. Cinchonamin. — Chinin enthält die Cortex Remijiae Purdieanae nie.

Die Rinde von der Remijia Purdieana, die ich bei meinen Untersuchungen benutzte, war von der bekannten chemischen Fabrik von *Gehe & Co.* in Dresden in liebenswürdigster Weise geschenkt worden.

Die Droge bestand aus unregelmässigen, selten halb zusammengerollten, meist flachen, im Durchschnitt ca. 100 mm. langen und ca. 20 bis 30 mm. breiten Rindenstücken von 0,5 bis ca. 2 mm. Dicke. Ein Teil der Rindenstücke war mehr oder weniger mit einer grauen Epidermis bedeckt, die, auf einzelnen Stellen fehlend, die Rinde gefleckt erscheinen liess, wogegen nur einige, augenscheinlich von älteren Exemplaren stammende, dickere Stücke der Rinde stellenweise mit einer recht dünnschichtigen warzigen Borke belegt waren. Die längsgefurchte Innenseite der Rindenstücke fand ich meist schwach rötlich-braun, mitunter deutlich rotbraun gefärbt. Die ziemlich harte Rinde bricht kurzfaserig und hat nach Hesse (5), der eine ausführliche Beschreibung, sowie eine Abbildung des Querschnittes der Rinde gegeben, ein spezifisches Gewicht von 1,331, von Arnaud (15) zu 1,32 gefunden.

Meine Beobachtungen über die Cortex Remijiae Purdieanae stimmen bis auf zwei, unten zu besprechende Punkte wesentlich mit den von Hesse (5) gemachten überein, nicht aber in manchen Dingen mit der Beschreibung, die Planchon (11) über den anatomischen Bau der Rinde geliefert hat.

Der Querschnitt der dünneren, längsgefurchten Rindenstücke ergab zu äusserst ein mehrschichtiges Periderm mit den älteren und jüngeren flachen, tafelförmigen Korkzellen, weiter nach Innen die tangential gestreckten, dünnwandigen Zellen des primären Rindenparenchyms, zwischen denen ziemlich spärlich die Sclerenchymzellen mehr einzeln als

zu sogenannten Nestern vereinigt liegen. In dem Bastparenchym der sogenannten Innenrinde sind die zahlreichen, sehr geringlumigen, dicht gedrängten und relativ grossen Bastfasern meist zu 2 bis 3 Zellen breiten Strängen angeordnet, die durch die Markstrahlen getrennt sind; auch habe ich in der Innenrinde mitunter vereinzelt liegende Sclereiden beobachten können. Die anfänglich radial gestreckten Zellen der sich allmählich nach aussen verbreiternden Markstrahlen verlieren sich unmerklich im primären Rindenparenchym.

Im Durchschnitt fand ich auf 8 bis 10 Rindenstücke eines, welches Milchsaftschläuche enthielt, sogar bis zu vier auf einem einzigen Querschnitt. Ich kann daher in diesem Punkt mit der Ansicht von HESSE (5) nicht übereinstimmen, der das Vorkommen von Milchsaftschläuchen in der Cort. Remijiae Purd. als « sehr selten » bezeichnet, indem, wie auf p. 213 seiner oben wiederholt citierten Abhandlung zu lesen steht, es ihm erst nach vielen Bemühungen gelungen war, in einem Querschnitt von der Rinde « *einen* » Saftschlauch zu erkennen, welchen genannter Autor auch in seiner Abbildung des Querschnittes der Rinde auf p. 264 aufgenommen hat. Die Milchsaftschläuche, die ich beobachtet habe, befanden sich, häufig durch relativ grössere Zwischenräume getrennt, aber meist fast in einer Linie angeordnet, in der mittleren Region der primären Rinde.

Was einen ferneren Umstand anbelangt, bei dem meine Beobachtungen mit den von HESSE (5) gemachten sich nicht decken, so ist es der, dass HESSE (5) p. 214 anführt, dass die Cortex Remijiae Purdieanae die GRAHE'sche Reaktion nicht giebt.

Ich habe mit der Rinde genannte Reaktion wohl erhalten, was auch sehr begreiflich ist, wenn man berücksichtigt, dass die Rinde im Cinchonin ein wirkliches Chinaalkaloid enthält. Am besten kam die Reaktion aus, wenn zu derselben ein etwas grösserer Splitter in der bekannten Weise vorsichtig erhitzt wurde; erst später sich entwickelnde braune Dämpfe verdecken die Reaktion.

2. UEBER VERSUCHE, DEN SITZ DER ALKALOIDE IN DER CORTEX REMIJIAE PURDIEANAE MIKROCHEMISCH FESTZUSTELLEN, UND ÜBER DIE PRÄPARATION DER RINDE.

Ich erlaube mir hier eingangs nachfolgenden Abschnitt aus der Arbeit von HESSE (l. c.) (5) p. 213 wörtlich zu citieren :

« In den Zellen der Aussenrinde, weniger in denen der Markstrahlen, ist eine gelbe Substanz, untermischt mit zahlreichen Krystallen, eingelagert. Lässt man Alkohol hinzutreten, so löst sich die gelbe Substanz und ein

grosser Teil der Krystalle auf, während nun Krystalle von oxalsaurem Kalk bemerkbar werden. Befeuchtet man den Querschnitt mit Rosanilinlösung, so färben sich die Parenchymzellen lebhaft rot, während die Baströhren und Stein- oder Sclerenchymzellen ihre gelbe Farbe unverändert beibehalten. Aus dem Umstande nun, dass die Salze der vorliegenden Alkaloide sich mit Rosanilin rot färben und die Rinde diese Alkaloide nur in Form von Salzen enthält, glaube ich den Schluss ziehen zu können, dass die Sclerenchymzellen und Baströhren keine Alkaloidsalze enthalten, dass hingegen diese sich in dem übrigen Teil der Rinde vorfinden, namentlich in der Aussenrinde. Wahrscheinlich sind die beobachteten alkohollöslichen Krystalle die Alkaloidsalze selbst. »

Bei meinen Untersuchungen der Rinde fand ich besonders in den mehr nach aussen gelegenen Zellen der primären Rinde sowohl eine gelbe, als auch in anderen Zellen, jedoch seltener, eine fast ziegelrote Substanz, mitunter beide in verschiedenen Nüancierungen auftretend. Diese Substanzen lösten sich zum grössten Teil in Alkohol auf. Auch bei möglichst dünnen Schnitten habe ich jedoch nicht mit Sicherheit solche Krystalle beobachtet, die auf ein eventuell vorhandenes Alkaloidsalz hätten schliessen lassen können. Vorhandene Krystallisationen erwiesen sich als Calciumoxalat. Undeutliche krystallinische Gebilde, deren genaue Beobachtung durch Farbstoffe und sonstigen Zellinhalt behindert war, fand ich allerdings in der oberen Rindenregion vertreten, auch mitunter in den Markstrahlen, nie jedoch, wie auch Hesse (5) hervorhebt, in den Baströhren und Sclereïden.

Alkohol löste diese krystall-ähnlichen Gebilde zum Teil schnell, mitunter erst nach längerer Behandlung; auch fand ich, dass durch eine Rosanilinlösung die Parenchymzellen rötlich gefärbt wurden sowohl vor, als auch nach Alkoholbehandlung der betreffenden Schnitte; in letzterem Falle allerdings weniger intensiv.

Ein anderes Verfahren, das ich zum Nachweise über den Sitz der Alkaloide in vorliegender Rinde eingeschlagen hatte, führte zu ganz erfreulichen Resultaten. Es ist das die von Parfenow (20) bei anderen Chinarinden benutzte und empfohlene Methode, die Schnitte in 80° heisse 5 % Natronlauge zu bringen und das betreffende Gefäss, in dem sich die Schnitte befinden, unter Vermeidung jeglicher Erschütterung erkalten zu lassen.

Nach ca. 3 Stunden fand Parfenow (20) nach dieser Behandlung der Schnitte von gewissen Chinarinden im parenchymatischen Gewebe der Schnitte, oft auch in den Saftröhren vom Periderm bis zur inneren

Bastregion, zum Teil zahlreiche Alkaloidkrystalle, zum Teil grünlich gefärbte, kugelige Gebilde, welche letztere sogenannten Sphärokrystallen ähnlich gesehen haben. Ferner ist es PARFENOW (20) gelungen, mit mehr Erfolg als anderen Autoren in England, die Krystalle in Dauerpräparaten zu erhalten, indem er die betreffenden Schnitte in Glyceringelatine unter Zusatz einer Spur NaHO einschloss, wobei er anführt, dass die Natronlauge zur Glyceringelatine im Reagensglase bis zur schwachen Trübung zuzusetzen wäre.

Die Schnitte der Cortex Rem. Purd., die ich nun nach dieser Methode behandelt hatte, zeigten meist in dem Periderm zunächst angrenzend gelegenen Zellenreihen, aber auch in anderen Regionen der sogenannten Aussenrinde, mitunter relativ sehr reichliche Mengen kugeliger Gebilde, die sich als sogenannte Sphärokrystalle erwiesen. Diese in verschiedenen Grössen und Farbenschattierungen auftretenden kugeligen Gebilde traf ich in Schnitten derselben Rindenstücke stets in denselben Formen und in gleicher Region an, während Schnitte verschiedener Rindenstücke ein mitunter sehr abweichendes Verhalten, besonders was Quantität aber auch Qualität an erhaltenen Gebilden anbelangt, zeigten. — Diese letzteren Beobachtungen stimmen nun ganz mit der von HESSE (5) bei der Alkaloidgewinnung aus der Cort. Rem. Purd. gemachten Erfahrung überein, dass der Alkaloidgehalt dieser Rinde grossen Schwankungen unterworfen ist, namentlich in Betreff der Qualität; doch hat er durchgehends mehr als zwei Alkaloide beobachten können. Ich fand Rindenstücke, in denen ich auf besprochene Weise nur sehr geringe Mengen eines Alkaloides nachweisen konnte, während andere Stücke sich wieder ganz überraschend alkaloidreich erwiesen. Die grossen kugeligen Gebilde waren meist von graugrüner, kleinere von rötlicher bis orangegelber Färbung in den verschiedensten Nüancierungen, und die kleinsten Gebilde meist hell oder farblos. Ausgesprochene Krystallisationen habe ich leider verhältnismässig nur selten bei dieser Behandlung beobachten können und dann schienen sie mir sekundär aufzutreten, auf dem Schnitt oder neben demselben auf dem Objektträger, auf Kosten eines Teiles der kugeligen Gebilde, resp. Sphärokrystalle. Alkohol löste die grossen, graugrünen Gebilde und die Krystallisationen durchschnittlich leicht, weniger die kleineren rötlichen, gelblichen und hellen Gebilde. Aether und Benzol lösten sie zum Teil recht schwierig, Chloroform löste nur sehr wenig und Petroläther schien sie fast gar nicht zu lösen. Einzelne der vorkommenden Krystallisationen waren Prismen, während ich in anderen monokline Nadeln erkannt zu haben glaube. — Im übrigen habe ich mit Schnitten,

die in 5 % kalter Natronlauge einige Stunden gelegen hatten, fast ebenso gute Resultate gesehen, wie mit Schnitten aus heisser 80° NaHO nach Parfenow (20). Die kugeligen Gebilde, sowie die Krystallisationen in den Schnitten, die nach der von Parfenow (20) empfohlenen Methode behandelt waren, konnten beim Betupfen der Schnitte mit recht verdünnter Schwefelsäure zumeist leicht in Lösung gebracht werden, in welchen Lösungen dann mit den bekannten Alkaloidgruppenreagentien, wie Phosphormolybdänsäure, Kaliumwismuthjodid etc., die erwarteten Fällungen entstanden. Die verschiedensten Versuche jedoch, die einzelnen Formen der kugeligen Gebilde resp. Sphärokrystalle und die vorhandenen Krystallisationen speziell zu identifizieren, führten zu keinem brauchbaren Resultate, vielleicht aus Mangel an einer geeigneten Reaktion für das Cinchonin.

Zum Schluss möchte ich mir eine Bemerkung über die von Godefroy (21) empfohlene Methode der mikrochemischen Alkaloidgehaltbestimmung in Chinarinden erlauben. Diese Methode, nach der auch andere Autoren späterhin gearbeitet haben, besagt, dass man die mit verdünnter Schwefelsäure befeuchteten Schnitte mit konzentrierter Rhodankaliumlösung behandeln soll, wodurch charakteristische, krystallinische Fällungen der einzelnen Chinaalkaloide hervorgerufen werden sollen.

Als ich nach dieser Methode mit Schnitten von der Remijia Purdieana arbeitete, erhielt ich fast momentan entstehende Fällungen von mannigfaltigen, schön ausgebildeten Krystallisationen, nur habe ich leider gefunden, dass auch bei Nichtanwesenheit eines Alkaloides in verdünnter Schwefelsäure durch Rhodankaliumlösung die bei dieser Reaktion entstehenden, schön ausgebildeten, meist tafelförmigen Krystalle, von mitunter auch hemimorphem Charakter, des Monokaliumsulfats — $KHSO_4$ — hervorgerufen werden.

Um die erhaltenen Sphärokrystalle etc., in den, nach der von Parfenow (20) empfohlenen Methode, behandelten Schnitten von der Cort. Remijia Purd. in Dauerpräparaten zu fixieren, verwandte ich als Einschlussmittel Glyceringelatine, nach der von demselben Autor angegebenen Vorschrift, aus dem besten und reinsten Material präpariert. Hierbei fand ich, dass ein Zusatz von 5 prozentiger NaHO zu der Glyceringelatine diese nicht früher trübt, als bis so viel hinzugesetzt wurde, dass das Gemisch nach dem Erkalten flüssig blieb. Im übrigen liessen sich die Schnitte ganz gut bei vorsichtiger Behandlung in kaltem destilliertem Wasser von der anhaftenden Natronlauge abwaschen, ohne dass die Sphärokrystalle aus

den Zellen fortgespült wurden; ob dasselbe mit den in geringer Menge vorhandenen wirklichen Krystallen der Fall war, konnte ich nicht genau feststellen. Wurden derartige abgespülte Schnitte in Glyceringelatine eingebettet und die Objektträger noch nachträglich erwärmt, um etwa vorhandene Luftblasen unter dem Deckgläschen zu entfernen, so zeigten sich am anderen Tage mannigfaltige, schöne und relativ grosse Krystalle die sich, meist auf dem Schnitt liegend oder unmittelbar neben demselben, auf Kosten eines Teiles der kugeligen Gebilde, besonders der grösseren graugrünen und rötlichen, gebildet hatten. Die Sphärokrystalle konnte ich nur dann zum Teil in Dauerpräparaten fixieren, wenn ich die betreffenden Schnitte, ohne sie von der anhaftenden Natronlauge zu befreien, in ätznatronhaltige Glyceringelatine eintrug. Eine Beeinträchtigung der Präparate durch das anwesende Aetznatron, auf Kosten der Deutlichkeit des mikroskopischen Bildes, habe ich erst nach monatelangem Aufbewahren wahrnehmen können.

Mit Rücksichtnahme auf rein histologische Verhältnisse habe ich das von PARFENOW (20) in ausgedehntem Masse geübte Verfahren eingeschlagen, die Rindenstücke zunächst nach Möglichkeit von ihrem Zellinhalte an Farbstoffen, Stärke, Proteïnsubstanzen, Gerbstoffen, Alkaloiden etc., durch anhaltendes kaltes Macerieren mit 1 % NaHO zu befreien. Hierauf wurden die durch langstündiges Digerieren mit viel Wasser auf dem Dampfbade vom NaHO befreiten Rindenstücke mit heisser Glyceringelatine imprägniert. Dieses Verfahren zur Präparation der Rindenstücke macht individuelle Geschicklichkeit bei Anfertigung von Schnitten ziemlich unabhängig von der Beschaffenheit des in vorliegendem Falle recht unhandlichen Materials und dürfte auch für eine Mikrotom-Behandlung die geeignetsten Objekte liefern.

Die erhaltenen Schnitte werden dann durch vorsichtig geleitetes Erhitzen mit reichlichen Mengen Wasser vom Leim befreit und durch nachheriges 12-stündiges Liegenlassen in 5 % NaHO entsprechend entfaltet. Eine Nachbehandlung der aus der NaHO genommenen Schnitte mit offizineller Essigsäure schien mir nicht unwesentlich zu einer noch vollkommeneren Aufhellung beizutragen. Zu Dauerpräparaten verwandte ich hier als Einschlussmittel gleichfalls Glyceringelatine mit gutem Erfolg.

Ich halte es für überflüssig alle von mir bei obengenannten Untersuchungen benutzten Hilfsmittel zu Tinctions-, Aufhellungs- und anderen Zwecken hier einzeln anzuführen, möchte aber noch hervorheben, dass ich die Ferriacetatlösung nach WARNECKE (24) als ein empfindlicheres Reagens

auf die in vorliegendem Falle eisengrünenden Gerbsäuren gefunden habe, als das Ferrichlorid es ist.

Fasse ich die bemerkenswerteren Ergebnisse vorstehender Untersuchungen kurz zusammen, so ergiebt sich folgendes :

1. Die Beschreibung, welche Planchon (11) über den anatomischen Bau der Cortex Remijiae Purdieanae gegeben, stimmt nicht ganz mit meinen Beobachtungen und der von Hesse (5) gelieferten Beschreibung über die Rinde überein.

2. Milchsaftschläuche in der Cortex Rem. Purd. sind nicht als « sehr selten » vorkommend zu bezeichnen.

3. Die Cort. Rem. Purd. giebt die Grahe (12)'sche Reaktion.

4. Das Sichtbarmachen der Alkaloide in Schnitten mit Aetzalkalien nach Parfenow (20) kann als praktisch wertvolles Kennzeichen für die Güte der in ihrem Alkaloidgehalte grossen Schwankungen unterworfenen Cort. Remijiae Purdieanae dienen : « ein beachtenswertes Moment als qualitativer Faktor auch für Drogenhändler und Fabrikanten ».

5. Die von Godefroy (21) empfohlene Methode um Alkaloidkrystallisationen auf Schnitten von Chinarinden hervorzurufen, erfüllt nicht ihren Zweck.

6. Die vorhergegangene Präparation von Rindenstücken nach Parfenow (20) ist für die Cortex Remijiae Purdienae im Interesse bedeutender Erleichterung bei anatomisch histologischen Studien sehr zu befürworten.

II. Eigenschaften des Cinchonamin.

Das mit Cinchotin und Hydrocinchonidin isomere Cinchonamin wurde 1881 von Arnaud (7) in der Rinde von Remijia Purdieana entdeckt. Eingehende Studien über die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Alkaloides und seiner Salze sind besonders von Arnaud (7, 14, 15, 16, 17, 28) und Hesse (5, 8) gemacht worden, doch liegen zunächst noch keine genaueren Angaben über seine Konstitution vor; nach Hesse (5) enthält die Base ein Hydroxyl. In seiner Zusammensetzung $C_{19}H_{24}N_2O$ steht es in der Mitte zwischen Cinchonin $C_{19}H_{22}N_2O$ und Chinamin $C_{19}H_{24}N_2O_2$ und ist als Homologes von Paricin $C_{16}H_{18}N_2O$, vielleicht als Propylparicin (1) aufzufassen. Aus den bisherigen chemischen Studien über

(1) Das Paricin wurde 1845 von Winckler in einer von Para importierten falschen Chinarinde gefunden; nach Hesse kommt es nicht selten in den Rinden der Cinchona succirubra vor. Ueber seine Wirkung wissen wir nichts.

das Cinchonamin und seine Salze, geht wohl unverkennbar seine nahe Verwandtschaft zum Cinchonin hervor, weshalb HESSE (5) die Möglichkeit ausspricht, dass die Remijia Purdieana die besondere Kraft hat, Cinchonin direkt in Cinchonamin überzuführen. Es würde dies eine Addition von Wasserstoff an Cinchonin bedeuten. Durch Oxydation mittelst Kaliumpermanganat wurde wie bei Cinchonin unter Ameisensäureabspaltung eine Base erhalten, die wahrscheinlich gleiche Zusammensetzung wie das Cinchonetin besitzt. — Nach HESSE (5) löst sich das Alkaloid leicht in heissem Alkohol, Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Benzol, weniger in kaltem Alkohol und spärlich in Petrolbenzin, Petroläther und Wasser. Seine alkoholische Lösung, welche stark bitter schmeckt, reagiert basisch und giebt weder mit Eisenchlorid noch mit Chlor und überschüssigem Ammoniak irgend welche Färbungen. Heiss bereitete wässrige Lösungen zeigen häufig die Erscheinung der Uebersättigung. Durch Einwirkung des Sonnenlichtes werden alkoholische Lösungen bei Ausschluss des Luftsauerstoffes in ähnlicher Weise zersetzt, wie es PASTEUR (10) bei den übrigen Chinaalkaloiden beobachtete. In alkoholischer Lösung lenkt es die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts ab. So wurde von HESSE (5) bei der Auflösung in 97 vpc. Alkohol bei $p = 2$, $t = 15^{0}$ $[\alpha]_D = + 121,1^{0}$ gefunden. ARNAUD (16) hat $[\alpha]_D = + 122,2$ gefunden. Die Base schmilzt bei 195° und krystallisiert aus Alkohol in wasserfreien hexagonalen Prismen mit Rhomboëderendungen. Trotzdem erwies die optische Prüfung, von FRIEDEL (30) und ARNAUD (16 und 28) ausgeführt, die Krystalle als dem orthorhombischen System zugehörig. Lösungen des Alkaloides in ungesäuertem Wasser fluorescieren nicht.

Das Cinchonamin bildet mit den Säuren zwei Reihen von Salzen, nämlich neutrale und einfach saure; zweifach saure Salze, wie z. B. das Chinin giebt, vermag es nicht zu bilden. Nach HESSE (5) lösen sich diese Salze meist leichter in Wasser als in Alkohol; mit Ausnahme des Rhodanats giebt ihre wässrige Lösung auf Zusatz von Salz- oder Salpetersäure krystallinische Niederschläge, indem das in der betreffenden Säure schwer lösliche Chlorhydrat resp. Nitrat entsteht. Starke Basen scheiden aus den Salzen die Base in Form eines weissen, käsigen, bald krystallinisch werdenden Niederschlages wieder ab. Platinchlorid erzeugt einen braunen, bald krystallinisch werdenden Niederschlag des in Wasser wenig löslichen Platindoppelsalzes. Das Chlorhydrat des Cinchonamin erhält man aus sauren Lösungen wasserfrei in dünnen glänzenden Blättchen. Beim Umkrystallisieren schiesst das Salz nach ARNAUD (16) aus absolut neutraler Lösung in dicken, matten, undurchsichtigen platten Prismen an, mit

1 Mol. Krystallwasser. Salpetersaures Cinchonamin scheidet sich aus heisser wässriger Lösung in kurzen, platten, farblosen Prismen ab, die sich schwer in kaltem Wasser, ziemlich leicht in kochendem Wasser und heissem Alkohol lösen, dagegen fast unlöslich in salzsäurehaltigem Wasser sind. Dinitrocinchonamin $C_{19}H_{22}(NO_2)_2N_2O$ entsteht durch Eintragen von Cinchonamin in konzentrierte Salpetersäure oder besser in verdünnte Säure und nachheriges Erwärmen, da es sonst leicht verharzt. Es bildet ein mit 3 Mol. Wasser krystallisierendes Platindoppelsalz und ist nicht explosiv. Wenn ich hier noch zum Schluss erwähne, dass auf der Unlöslichkeit des Cinchonaminnitrates in angesäuertem Wasser Arnaud (16) eine Methode begründet um Salpetersäure oder Nitrate gewichtsanalytisch zu bestimmen, so glaube ich, einschliesslich der in der Einleitung erwähnten physiologischen Arbeiten, das für meine spezielle Arbeit Wichtigste aus der Litteratur über das Cinchonamin und die gebräuchlichsten seiner Salze gesagt zu haben. Als letale Dosis giebt Marcacci (3) für einen Frosch 0,005 bis 0,01, für ein Kaninchen 0,1 bis 0,12 und für einen Hund von 14 kgr. Gew. 0,3 bis 0,35 an. Nach Laborde (1) tötet das Alkaloid Meerschweinchen zu 0,25 in 4 bis 5 Minuten. — Ueber charakteristische Farbenreaktionen des Alkaloides habe ich, ausser der von Hesse (5) erwähnten Beobachtung des Eintretens einer Rosafärbung beim Behandeln der Base mit konzentrierter Schwefelsäure, keine Litteraturangabe gefunden.

Reaktionen des Cinchonamin (32). — Bevor ich zu Tierexperimenten mit dem Gifte schreiten konnte, musste ich vor allen Dingen Farbenreaktionen oder sonstige charakteristische Reaktionen für die Base auffinden, zu welchen Versuchen mir letztere entweder in Wasserlösung oder in Form eines aus verschiedenen Lösungsmitteln erhaltenen Rückstandes auf Uhrgläschen diente. Im folgenden gebe ich eine Beschreibung der gefundenen Reaktionen, die wohl genügen dürften, insbesondere in ihrer Gesamtheit, dem untersuchenden Chemiker ein schnelles und sicheres Kriterium für die Unterscheidung des Cinchonamin von anderen Basen sowohl, als auch zum Nachweis seiner selbst bei vorkommenden gerichtlich-chemischen und anderen Untersuchungen zu ermöglichen.

1. *Cnm.* löst sich in *konzentrierter* reiner H_2SO_4 fast farblos; die Lösung wird langsam ($^1/_4$—$^3/_4$ St.) hell gelblich rosa, welche Färbung erst nach einigen Stunden langsam verblasst.

2. *Cnm.* mit rauchender, reiner oder überschüssiger verdünnter HNO_3 behandelt, nitriert sich mit intensiv gelber Färbung, bei sehr verdünnter HNO_3 sehr langsam, in der Wärme, resp. auf dem Dampfbade sehr

schnell. Bei dieser Reaktion bildet sich anfänglich *Dinitrocinchonamin* $C_{19}H_{22}(NO_2)_2N_2O$, das bei weiterer Einwirkung der HNO_3 verharzt und vielleicht nitriert wird. Sowohl die Wasserlösung dieses Produktes, als auch die Trockenrückstande geben mit *wässeriger oder alkoholischer* KHO oder NaHO versetzt eine intensive purpurrote bis goldorange Färbung. Vermittelst dieser Reaktion kann bei geeigneter Behandlung noch 0,000005 gr. freie HNO_3 einerseits und 0,000002 gr. Cnm. andererseits nachgewiesen werden.

3. *Cnm.* in conc. H_2SO_4 gelöst oder mit etwas conc. H_2SO_4 auf einem Uhrgläschen verrieben giebt auf Zusatz von etwas *KNO_3 in Krystallen* zu der Lösung eine hellgrüne Zone um die KNO_3-Krystalle, die sich langsam lösen, wobei dann später in der Mitte der Flüssigkeit eine sehr helle, gelbliche Zone auftritt mit dunkelgrünlichen Schattierungen an der Peripherie. Die Lösung wird langsam grün. Erkennungsgrenze bei ca. 0,0001 gr.

4. *Fröhdes Reagens* färbt sofort tiefblau, löst aber schnell smaragdgrün. Nach 5 bis 10 Minuten treten helle bläuliche Schattierungen an der Peripherie auf. Binnen einer halben Stunde hat die ganze Flüssigkeit einen mehr bläulich grünen Ton angenommen, nach 10 Stunden einen bleibend grasgrünen Ton. Erkennungsgrenze bei ca. 0,00001 gr.

5. *Wenzels Reagens* löst schmutzig hell bläulich violett. Nach einer Stunde ist die ganze Lösung sehr hell rötlich-braun geworden und verblasst vollkommen binnen 2 Stunden. Erkennungsgrenze bei ca. 0,002 gr.

6. *Mandelins Reagens* mit Bihydrat präpariert löst farblos. Die Lösung wird nach einer Minute hell grauviolett; nach 5 Minuten traten bräunlich grüne, helle Töne auf mit grauvioletten hellen Streifen von der Peripherie aus. Nach 1/2 Stunde ist die Lösung hell grauviolett bis schmutzig graugrün geworden und verblasst binnen ca. 1 1/2 Stunden. Erkennungsgrenze bei ca. 0,001 gr.

7. *Erdmanns Reagens* löst farblos mit undeutlichen grünvioletten Streifen von der Peripherie der Lösung ausgehend, nach 1 St. wieder verschwindend. Färbt sich beim Erhitzen braun. Erkennungsgrenze bei ca. 0,0005 gr.

8. *Luchinis Reagens* löst graugrün. Die Lösung geht binnen 5 Minuten in braungrün über und binnen einer Stunde in ein schönes Laubgrün, welche Färbung auch nach Stunden sich fast garnicht verändert. Erkennungsgrenze bei ca. 0,0005 gr.

9. *Bromdämpfe* unter einer Glasglocke mit den Rückständen auf den Uhrgläschen in Berührung gebracht, färben dieselben intensiv gelb Erkennungsgrenze bei ca. 0,0001 gr.

10. *Cnm.* in etwas konz. H_2SO_4 gelöst und mit einem kleinen *Krystall von Kaliumbichromat* versetzt, zeigt um letzteren sofort grüne Streifen. Nach einigen Minuten umgiebt den $K_2Cr_2O_7$ Krystall eine dunklere oliv-grüne Zone; nach ca. 30 Minuten ist die Lösung bräunlich-oliv geworden, nach 1 Stunde schmutzig bräunlich und nach ca. 20 Stunden olivgrün bis grasgrün. Erkennungsgrenze bei ca. 0,0005 gr.

11. *Cnm.* in konz. H_2SO_4 gelöst oder verrieben und mit etwas *Natriumsuperoxyd* versetzt giebt momentan eine olivgrüne Färbung, die binnen ca. 30 Minuten in ein helleres bräunliches Oliv übergeht und sich dann so auch nach Tagen nicht mehr verändert. Erkennungsgrenze bei ca. 0,00005 gr.

12. *Cnm.* in konz. H_2SO_4 gelöst oder verrieben giebt mit etwas *Bleisuperoxyd* in Pulverform versetzt um letzteres bald eine dunkel- bis grasgrüne Zone, die langsam heller wird und die ganze Flüssigkeit sehr hell grünlich färbt. Erkennungsgrenze bei ca. 0,0002 gr.

13. *Cnm.* in *konzentrierter Salzsäure* gelöst oder verrieben giebt mit etwas *Bleisuperoxyd* in Pulverform versetzt um letzteres sofort eine himbeerfarbene Zone, die ziemlich schnell dunkel rotviolett wird und dann erst nach Stunden sich langsam trübt. Erkennungsgrenze bei ca. 0,00002 gr.

14. *Cnm.* in *konz.* H_2SO_4 gelöst oder verrieben und mit etwas *Zucker* in kleinen Stückchen versetzt giebt bald bordeauxfarbene Streifen auf der Flüssigkeit, indem der sich selbst rosenrot färbende Zucker langsam aufgelöst wird. Die Streifen werden binnen 10 Minuten mehr rotviolett und haben nach ca. 20 Minuten immer nachdunkelnd die ganze Flüssigkeit eingenommen. Die dunkel himbeerrotviolette Lösung verblasst langsam etwas in den nächstfolgenden 2 bis 3 Stunden und geht binnen ca. 10 Stunden in ein schmutzig-helles Grauviolett über. Damit diese Reaktion gut eintreten soll, muss die conc. H_2SO_4 mit einer Spur Wasser vorher versetzt werden. Erkennungsgrenze bei ca 0,00005 gr.

15. Setzt man zu der vorigen Reaktion von *Cmn.* in H_2SO_4 + *Zucker* zu der Zeit, wo die bordeauxfarbigen Streifen in der Lösung schon grösser geworden sind, etwas *Eisessig*, so färbt sich die Lösung sofort braunrot mit rosa Schattierungen. Nach 5—8 Minuten wird die Lösung rosenrot bis rot violett, nach mehreren Stunden langsam mehr blauviolett und in 10 Stunden schmutzig grauviolett. Erkennungsgrenze bei ca. 0,00005 gr.

16. *Cnm.* in konz. H_2SO_4 gelöst und mit etwas *Furfurolwasser* versetzt, färbt sicht sofort braunrötlich. Erkennungsgrenze bei ca. 0,0005 gr.

17. *Cnm.* in *wässriger Lösung* mit etwas HCl, H_2SO_4, HNO_3 oder

H_3PO_4 versetzt und dann mit etwas *Mangansuperoxyd* in Pulverform, zeigt eine schöne dunkelrote Färbung. Mit HCl und H_2SO_4 gelingt die Reaktion am schönsten und kann auch bei geeigneter Behandlung mit den Rückständen des Cnm. auf Uhrgläschen direkt vorgenommen werden. In wässriger Lösung 1 : 20000 noch zu erkennen.

18. *Cnm.* in *verdünnter* H_2SO_4 gelöst giebt mit etwas konzentr. *Kaliumbichromatlösung* versetzt eine blutrote bis braunorange Färbung. Die Färbung ist noch in einer Verdünnung von 1 : 100000 schwach wahrzunehmen, resp. bei 0,000005 gr. Trockenrückstand in sehr wenig verdünnter H_2SO_4 + $^1/_8$ Tropfen conc. Kaliumbichromatlösung. Die rote Färbung geht binnen 20 Stunden langsam in eine hellgrünliche über.

19. *Cnm.* in *konz.* H_2SO_4 gelöst und mit einigen *Kaliumchloratkrystallen* versetzt, giebt an der Peripherie der Lösung sofort eine grünliche Färbung. Nach 2 Minuten treten dunkel grünlich-braune Schattierungen auf. Nach weiteren 10 Minuten treten hellere grünliche Töne von der Peripherie ausgehend auf, die binnen einer halben Stunde bräunlich werden und die Lösung langsam hell bräunlich färben. Die helle bräunliche Färbung hält sich noch nach 24 Stunden. Erkennungsgrenze bei ca. 0,0005 gr.

20. *Cnm.* in *verdünnter* H_2SO_4 gelöst und mit etwas *Kaliumchlorat* versetzt und *erhitzt* giebt eine schöne intensive rote Färbung. Die Färbung ist schnell vorübergehend, wenn zu viel Kaliumchlorat anwesend ist und zu viel erhitzt wird. Vorteilhaft ist es, sehr wenig Kaliumchlorat hinzuzusetzen, vorsichtig zu erhitzen und, sobald die Färbung eingetreten ist, schnell die Flüssigkeit erkalten zu lassen, in welchem Falle sich die Färbung auch nach Tagen wenig verändert. Erkennungsgrenze bei ca. 0,0001.

21. *Cnm.* in *konzentr. oder verdünnter HCl* gelöst giebt mit etwas *Kaliumchlorat* versetzt schon ohne zu erwärmen eine sehr intensive blutrote Färbung, die bei vorsichtigem Erwärmen noch intensiver wird. Eine mehr verdünnte *HCl* ist zu diesem Versuch passender. So kann Cnm. noch in einer Verdünnung von 1 : 500000 nachgewiesen werden, event. als Rückstand von 0,000002 gr. Es darf bei dieser Reaktion ebenfalls nicht viel Kaliumchlorat hinzugesetzt werden, auch nicht stark erwärmt werden. Wird der kalten Lösung, in der die schöne intensive rote Färbung bereits eingetreten, etwas Ammoniak hinzugesetzt, so treten in der Lösung, je nach der Menge des hinzugesetzten Ammoniaks und entsprechend der Konzentration der Lösung selbst, sehr schnell fast alle Farben des Regenbogens auf, am häufigsten violett und blau.

22. *Vanadinschwefelsäuremonohydrat* löst die Rückstände des *Cnm.* auf Uhrgläschen dunkelgraugrün bis dunkelolivgrün. Nach ca. 1 Minute treten an der Peripherie der Lösung sehr helle violettrosa Schattierungen auf, die sich allmählich mit der grünen Färbung zu einem trüben Graugrün mischen. Erkennungsgrenze bei ca. 0,001 gr. Mit *Cnm.* oder *Cnm.-Salzen* in *wässrigen Lösungen* giebt sie noch in einer Verdünnung von 1 : 10000 rote Färbungen.

23. *Cnm.* in *konz.* H_2SO_4 gelöst und mit etwas *Vanillin in Krystallen* versetzt giebt anfänglich eine mehr zinnoberrote, nach ca. 2 bis 5 Minuten eine schöne intensive dunkel-rosenrote Reaktion. Nach ca. 20 Minuten fängt sich die Flüssigkeit zu trüben an, indem sich geringe Mengen amorpher dunkel-rosenrot gefärbter Niederschläge bilden, die übrigens auch nach Tagen die Färbung der Reaktion selbst wenig beeinflussen und auch durch Zusatz von Wasser, Ammoniak oder Aetzalkalien zu der klaren Lösung erhalten werden können. Erkennungsgrenze für *Vanillin* oder *Cinchonamin* bei je ca. 0,000002 gr.

24. *Cnm.* in konz. *Schwefelsäure* gelöst und mit etwas *Formaldehyd* versetzt, giebt eine dunkelbraunviolette Reaktion mit weissvioletten Schattierungen an der Peripherie. Erkennungsgrenze bei ca. 0,001 gr.

25. *Nitroprussidnatrium* giebt mit Cnm. oder Cnm.-Salzlösungen noch in einer Verdünnung von 1 : 10000 eine Fällung.

26. *Konz. wässrige Lösungen* von *Kaliumnitrat* oder *Natriumnitrat* (konz. Salpetersäure ist nicht gut anwendbar, weil die sich bildenden Krystalle des Cnm. HNO_3 durch noch eventuell vorhandene freie Säure nitriert werden und das hierbei entstehende Produkt leicht löslich ist) fällen aus *Cmn.* oder *Cmn.*-Salzlösungen noch in einer Verdünnung von 1 : 2500 bis 1 : 3000 nach einiger Zeit die Cnm.-HNO_3 Krystalle. Bei grösserer Verdünnung tritt die Reaktion auch nach 24 Stunden nicht mehr ein.

27. Eine *wässrige Rhodankaliumlösung* fällt aus *Cnm.* oder *Cnm.*-Salzlösungen noch in einer Verdünnung von 1 : 30000 nach einiger Zeit recht charakteristische Krystalle des Rhodanats. Bei konzentrirteren Lösungen als 1 : 10000 entstehen sofort scheinbar amorphe Niederschläge, die, mikroskopisch betrachtet, sehr bald auf dem Objektträger zu baumartig verzweigten Massen zusammenbacken, in denen die Mikrokrystalle oft gleich Früchten an Zweigen erscheinen. Anwesenheit reiner HCl oder HNO_3 hindern, sofern sie nicht so konzentriert vorhanden sind, dass das Rhodankali eine Zersetzung erleidet, das Eintreten der Reaktion nicht nur garnicht, sondern befördern es vielmehr. Werden *Cnm.*-Salzlösungen gleichzeitig mit HNO_3 und Rhodankaliumlösung versetzt, so habe ich nie

die Prismen des Cnm. HNO_3 beobachten können, sondern immer die charakteristischen Krystallformen des Cnm. Rhodanats. Diese Krystallformen zeigen fast immer etwas gestreckte rektanguläre Lamellen oder Blättchen mit lebhaften Interferenzfarben. Sie sind doppelbrechend und scheinbar optisch einachsig.

Verhalten des Cinchonamin gegen einige Alkaloidgruppenreagentien. — Zu diesen Versuchen dienten mir wässrige Cinchonaminhydrochloratlösungen. Die hinzugefügten Zahlen bezeichnen annähernd die geringste Menge Substanz in betreffender Verdünnung, die noch eben wahrnehmbare Reaktion lieferte :

1.	Mit *Jodjodkalium*	1 : 150000
2.	» *Kaliumwismuthjodid*	1 : 100000
3.	» *Phosphormolybdänsäure*	1 : 50000
4.	» *Kaliumquecksilberjodid*	1 : 45000
5.	» *Brombromkali*	1 : 40000
6.	» *Pikrinsäure*	1 : 20000
7.	» *Kaliumkadmiumjodid*	1 : 15000
8.	» *Konz. Kaliumbichromatlösung*	1 : 15000
9.	» *Phosphorwolframsäure*	1 : 10000
10.	» *Gerbsäure*	1 : 10000
11.	» *Jodwasser*	1 : 8000
12.	» *Bromwasser*	1 : 8000
13.	» *Kaliumpermanganat*	1 : 5000

Im übrigen verweise ich, was Herstellung und Anwendung der Reagentien anbelangt, auf Prof. Dr G. Dragendorff's (31) bekanntes, im Jahre 1895 in neuer Auflage erschienenes Werk « Die gerichtlich-chemische Ermittelung von Giften ». Hinzufügen möchte ich hier noch, dass die von mir benutzten Cinchonaminpräparate, sowohl die Base selbst als auch ihr Hydrochlorat, als chemisch rein von der bekannten Firma E. Merck in Darmstadt geliefert worden waren.

III. Forensischer Nachweis des Cinchonamin (32).

Bei allen folgenden Versuchen und Vorversuchen mit Tieren und tierischen Flüssigkeiten gebrauchte ich ausschliesslich 0,5 bis 2prozentige wässrige Cinchonaminhydrochloratlösungen.

Die wichtigeren für diesen Abschnitt meiner Arbeit zu lösenden Fragen waren folgende :

1. Ist das Gift, nachdem es längere oder kürzere Zeit mit tierischen Geweben und Flüssigkeiten — eventuell auch faulenden — in Berührung

gewesen, unter Zugrundelegung einer der bekannten Alkaloidabscheidungsmethoden bei Objekten gerichtlichchemischer Untersuchungen, noch so weit unzersetzt wiedererhältlich, dass es mittelst der von mir gefundenen, oben angeführten Reaktionen nachgewiesen werden kann?

2. Welche der Ausschüttelungsflüssigkeiten ist eventuell bei der bekannten Dragendorff'schen Methode für das Cinchonamin zu bevorzugen?

3. Welches ist das Schicksal des Giftes im tierischen Organismus?

4. Welche Organe, Flüssigkeiten oder Ausscheidungen des Organismus würde der Gerichtschemiker hinsichtlich des Cinchonamin bei einer event. Expertise besonders zu berücksichtigen haben?

1. Darlegung der Versuchsanordnung.

Der Gang meiner Untersuchungen, die zur Lösung oben gestellter Fragen führen sollten, richtete sich zunächst wesentlich nach der von Dragendorff (30) angegebenen Methode und war folgender:

Die Objekte (festere Substanzen) wurden zerkleinert und mit schwefelsäurehaltigem Wasser (so dass in dem Gemenge deutlich saure Reaktion obwaltete) je 2 Mal bei ca. 40°C. einige Stunden lang digeriert. Die vereinigten Auszüge, in Summa durchschnittlich ca. 120 c. c. betragend, wurden koliert und im Wasserbade bis fast zur Konsistenz eines dünnen Sirups verdunstet. Der Rückstand wurde mit dem 3- bis 5-fachen Volum Alkohol von 90—95 % gemischt und 24 Stunden maceriert. Die abgeschiedenen Stoffe wurden abfiltriert, mit Weingeist von ca. 75 % nachgewaschen, und vom Filtrat wurde durch Destillation der Alkohol getrennt. Der abgekühlte, meist mit etwas Wasser nachverdünnte Rückstand wurde schliesslich nochmals filtriert und war nun so vorbereitet, dass mit der Extraktion des Giftes in der bekannten Weise begonnen werden konnte. Was die Untersuchungen tierischer Flüssigkeiten anbelangt, so habe ich für Blut (Blutkörperchen und Serum auch getrennt behandelt) und Speichel meist dasselbe obengenannte Verfahren eingeschlagen, obschon die Vorbehandlungen des Blutes mit Essigsäure und kochendem Wasser etc., nach Professor Kobert, ebenso gute Resultate lieferte. Natürlich habe ich bei Untersuchungen genannter Flüssigkeiten nach erstgenannter Methode, dort, wo es nicht notwendig erschien, einen grösseren Wasserzusatz vermieden, und sie direkt mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure sauer gemacht und dann unter häufigem Umschütteln weiter wie oben behandelt. Hirn, Nervenmasse, Magen- und Darminhalt wurden im Mörser gleichmässig zerkleinert, dann weiter wie das Blut behandelt. Beim

Harn führten direkte Ausschüttelungen, sowie Eindampfen und Alkoholbehandlung zu weniger günstigen Resultaten. Nach verschiedenen Versuchen fand ich folgendes von Herrn Prof. KOBERT angeratene Verfahren für diesen speziellen Fall am geeignetsten : 40 bis 45 c.c. möglichst neutraler Harn oder weniger (wenn grössere Mengen zur Untersuchung vorlagen, so wurde vorsichtig bis zu dieser Anzahl c.c. eingedampft) wurden mit einer konzent. Lösung von neutralem Bleiacetat versetzt um Phosphate, Farbstoffe, Karbonate etc. zu fällen. Nachdem im Filtrate durch H_2S der geringe Bleiüberschuss entfernt worden war, wurde die filtrierte Flüssigkeit vom H_2S durch gelindes Erwärmen auf dem Dampfbade, vom abgeschiedenen Schwefel durch nochmalige Filtration, befreit und war nun zur Untersuchung genügend vorbereitet. Nicht unerwähnt möchte ich lassen, dass ein direkter Nachweis von Cinchonamin im Harn (33) mittelst HNO_3 mir nicht gelungen ist. Diese Angabe eines französischen oder italienischen Autors wird wohl auf eine Täuschung zurückzuführen sein, da es mir wohl wiederholt gelang in Cinchonaminhaltigem konzentriertem Harn durch Zusatz von HNO_3 im Verlauf von ca. 10 Stunden Krystallisationen hervorzurufen, diese sich aber als aus salpetersaurem oder harnsaurem Harnstoff und aus Harnsäure bestehend erwiesen, indem sie sowohl die Furfurol + HCl, als auch die Murexid-Reaktion erkennen liessen. Die Krystalle des Cinchonaminnitrates waren hier nie nachzuweisen.

Das an die beschriebenen vorbereitenden Arbeiten sich anschliessende bekannte Ausschüttelungsverfahren richtete sich zunächst ganz nach der von DRAGENDORFF (30) für derartige Untersuchungen vorgeschlagenen Weise, bis diejenige Flüssigkeit ermittelt war, welche das Gift am leichtesten und schnellsten aufnahm. Es wurden also die betreffenden Untersuchungsflüssigkeiten vorerst in saurer Lösung, wie sie waren, der Reihe nach mit Petroläther, Benzol und Chloroform ausgeschüttelt und hierauf mit Ammoniak alkalisch gemacht und nochmals mit Petroläther, Benzol und Chloroform ausgeschüttelt. Schliesslich folgte als siebente Ausschüttelung die mit Amylalkohol. Die erhaltenen Auszüge wurden filtriert, auf 2 bis 3, selten mehr, Uhrgläschen verteilt und der Verdunstung überlassen. Fand sich ein Rückstand, so wurde derselbe mit den empfindlichsten der oben angeführten Reagentien auf Cinchonamin geprüft. Am häufigsten benutzte ich hierbei die unter 2 angeführte Nitrierung mittelst Salpetersäure mit nachherigem Betupfen des Trockenrückstandes mittelst alkoholischer Kalilauge, aber auch die unter den N°N° 4, 13, 14, 23, etc., ausführlich besprochenen Reaktionen. Bisweilen, wo ein relativ grösserer

Cinchonamingehalt in der Untersuchungsflüssigkeit zu erwarten stand, prüfte ich die gereinigte Flüssigkeit noch vor den Ausschüttelungen direkt mit den unter den N°N° 17, 18 und 21 angegebenen Reagentien auf Cinchonamin, wobei ich einige Resultate zu verzeichnen hatte; in gleichem Falle gaben auch die für das Cinchonamin empfindlicheren Alkaloidgruppenreagentien Fällungen.

Dass das Schütteln mit den einzelnen Isolierungsflüssigkeiten anfänglich gleichmässig ca. 10 bis 15 Minuten fortgesetzt wurde, brauche ich wohl nicht besonders zu betonen, eben so wenig, dass ein besonderes Gewicht auf Reinheit und vorschriftsmässige Beschaffenheit der bei den Untersuchungen benutzten Utensilien und Chemikalien gelegt wurde. Eine Beschreibung aller bei diesen Untersuchungen zu beachtenden Vorsichtsmassregeln und Manipulationen, wie z. B. bei Trennungen der Flüssigkeiten in der Bürette, auf dem Filter etc., kann ich mir füglich ersparen, nur möchte ich noch hinzufügen, dass nach der Chloroformausschüttelung aus saurer Lösung zunächst, wie üblich, ein nochmaliges Ausschütteln der wässrigen Flüssigkeit mit Petroleumäther folgte, um die Reste des Chloroforms fortzunehmen, bevor die betreffende Flüssigkeit ammoniakalisch gemacht wurde.

2. Allgemeine Besprechung der bei den Ausschüttelungen erhaltenen Resultate.

Bei den Ausschüttelungen aus saurer Lösung mit Petroläther erhielt ich meist geringe Rückstände, die keine Reaktion auf Cinchonamin ergaben : Fette, färbende Substanzen etc. Um die Untersuchungsflüssigkeiten von derartigen Substanzen nach Möglichkeit zu reinigen, unterliess ich daher auch bei den späteren Untersuchungen, wo ich nur noch eine Extraktionsflüssigkeit benutzte, selten eine vorhergehende gründliche Ausschüttelung mit Petroläther.

Die Benzol- und Chloroformausschüttelungen aus saurer Lösung gaben nur bei relativ reichlicherem Cinchonamingehalt der betreffenden Untersuchungsflüssigkeiten sehr geringe Rückstände, die die empfindliche Reaktion N° 2 auf Cinchonamin fast immer sehr schwach ergaben. Eine vollkommene Extraktion des Giftes aus der Untersuchungsflüssigkeit mittels letztgenannter Ausschüttelungsflüssigkeiten gelang aus sauren Lösungen nie.

Die Ausschüttelungen aus ammoniakalischer Lösung führten mit Petroläther zu keinem bemerkenswerten Resultat, wohl aber mit Benzol und, wenn hierbei nicht vollkommen extrahiert worden war, mit Chloro-

form. Die Amylalkoholausschüttelung ergab dann natürlich schon aus diesem Grunde kein Resultat mehr.

Da also das Cinchonamin nach dem Gang der oben dargelegten Untersuchung sich aus den betreffenden wässrigen Flüssigkeiten zuerst vollkommen und relativ leicht bei der ammoniakalischen Benzolausschüttelung extrahieren liess, so wurde diese Methode ausschiesslich bei den ferneren Untersuchungen benutzt. Gewöhnlich genügte eine einmalige sorgfältige und gründliche Ausschüttelung mit Benzol zur vollkommenen Extrahierung des Giftes aus der ammoniakalischen wässrigen Lösung, doch habe ich in nötigen Fällen eine Wiederholung der Ausschüttelung vorgenommen; eine zum dritten nal ausgeführte Ausschüttelung derselben ammoniakalischen Flüssigkeit mit Benzol gab nie Resultate. Eine mikroskopische Prüfung der aus den ammoniakalischen Benzolausschüttelungen auf Uhrgläschen erhaltenen Cinchonaminrückstände ergab fast ausschliesslich amorphe Massen, in seltenen Fällen krystallinische Gebilde und nie ausgesprochene Krystalle.

Es würde wohl nicht schwer sein, im Hinblick auf einige der Reaktionen des Cinchonamin, speziell der mit Alkaloidgruppenreagentien erhaltenen, eine brauchbare Methode für den quantitativen Nachweis des Giftes bei gerichtlich chemischen Untersuchungen auszuarbeiten.

Vielleicht dürfte auch schon einfaches Wiegen der Rückstände auf Uhrgläschen brauchbare Resultate geben. Mir genügten zunächst in der Hinsicht vergleichend kolorimetrische Betrachtungen, die ich mit den einzelnen Reaktionen vornahm und die sich besonders bei den unter den N°N° 4, 13, 14, 23 besprochenen Farbenreaktionen des Cinchonamin, sehr wohl mit Erfolg ausführen liessen. Im allgemeinen stützt sich die Kritik über erhaltene Reaktionserscheinungen bei den im folgenden Abschnitt dargelegten Untersuchungen auf die überaus empfindliche Reaktion des Cinchonamin durch Nitrierung und Nachbehandlung des Trockenrückstandes mit alkoholischer Kali- oder Natronlauge.

3. Verzeichnis der ausgeführten Vorversuche.

I. 100 c.c. *Harn* eines *normalen Menschen* wurden mit 5 c.c. einer 1 % Cnm. HCl-Lösung ca. 6 Stunden bei ca. 20° C. stehen gelassen. Der Harn wurde nach dem Eindampfen zur dünnen Sirupkonsistenz der Alkoholbehandlung unterworfen. Aus der Ammoniakbenzolausschüttelung blieben augenscheinlich schwach verunreinigte Rückstände, die Reakt. N° 2 ergaben, jedoch merkbar getrübt und in der Färbung anders nüanciert, als bei reinem Cnm.; aus den anderen Ausschüttelungen blieben mitunter die verschiedensten Rückstände, in denen kein Cnm. nachzuweisen war.

II. Einem männlichen grossen *Hunde* vom Kaliber einer dänischen Dogge wurden

2,5 c.c. einer 2,0 % Cnm.-HCl-Lösung subkutan beigebracht. 14 Stunden nach der Injekt. gelang es 15 c.c. Harn zu gewinnen. Dass der in einem Käfig ohne Zinkblechboden und Abflussrohr sich frei bewegende Hund, nicht auf meine Aufforderung gewartet hat, ist wohl anzunehmen. Angewandte Methode : Alkoholbehandlung ohne Eindampfen. — Resultat der Analyse : Reaktion wie bei Versuch I, nur noch schwächer. — 45 Stunden nach der Injekt. wurde die 2te Port. Harn (35 c.c.) vom Hunde gewonnen. Angewandte Methode : Alkoholbehandlung ohne Eindampfen, doch mit folgender Zuerstausschüttelung in saurer Lösung mit Amylalkohol, um Harnstoff, Gallensäuren etc. fortzuschaffen. — Die Analyse ergab in allen Ausschüttelungsflüssigkeiten keine Reaktion auf Cnm.

III. 100 cc. *Menschenharn* wurden mit 2 c.c. einer 1 % Cnm.-HCl Lösung gemischt und ca. 12 Stunden bei ca. 20° C. digeriert. Je 51 c.c. des Untersuchungsobjektes wurden gesondert behandelt. — *a)* Untersuchungsflüssigkeit, 51 c.c., enthält 0,01 Cnm.-HCl. ; angewandte Methode : Eindampfen zur Sirupkonsistenz mit nachheriger Alkoholbehandlung und Zuerstausschüttelung mit Amylalkohol. Analyse : schwache, doch relativ reine Cnm. Reaktion in Rückständen der auf 3 Uhrgläschen verteilten Benzolausschüttelungen aus ammoniakalischer Lösung. *b)* Die andere Portion wurde ganz ebenso, doch ohne Eindampfen behandelt. Resultate : dieselben wie bei *a*, nur weniger deutlich.

IV. 100 c.c. *Menschenharn* wurden mit 2 c.c. einer 1 % Cnm.-HCl-Lösung gemischt und ca. 6 Stunden bei ca. 20° C. digeriert. Je 51 c.c. des Untersuchungsobjektes wurden gesondert unter *a)* und *b)* behandelt. *a)* Methode der Bleiacetatbehandlung. Analyse : deutliche und reine Reaktion. *b)* Methode : direkte Ausschüttelungen ohne Vorbehandlung. Analyse : keine Reaktion auf Cnm., auch nicht in den Rückständen der ammoniak. Benzolausschüttelungen, weil durch mitausgeschüttelte Substanzen getrübt.

V. Derselbe *Hund* wie in Versuch II erhielt 50 Stunden nach der ersten Injektion wieder 0,05 Cnm-HCl subkutan. 45 St. nach der Injektion wird der erste Harn aufgefangen : 45 c.c. Methode : Bleibehandlung. Analyse : kaum Spuren einer Reaktion.

VI. Derselbe *Hund* vom Versuch II und V. erhielt 20,0 gr. Kali nitricum in Wasserlösung mit der Magensonde appliziert. 2 Stunden nach der Applikation des KNO_3: subkutane Injektion von 0,1 Cnm.-HCl. Versuchstier wird in den Gallenfistelapparat geschnallt um genau beobachten zu können, dass kein Harn verloren geht. Der Hund bekommt viel Wasser zu trinken, ist aber sehr unruhig und lässt im Apparat keinen Harn ab. 5 Stunden nach der Injektion wird der Hund auf kurze Zeit losgebunden und es gelingt ohne nennenswerten Verlust 48 c.c. Harn zu gewinnen. 11 Stunden post Injekt. dieselbe Prozedur mit einem Gewinn von 35 c.c. Harn. Port. I wird mit H_2SO_4 angesäuert, bis zum halben Volumen eingedampft und der Alkoholbehandlung unterworfen. Analyse : In der ammoniakal. Benzolausschüttel. eine schwache Cnm.-Reakt., doch sehr getrübt. Port. II wird ohne einzudampfen der Bleiacetatbehandlung unterworfen. Analyse : mit den Rückständen der gesamten ammoniakalischen Benzolausschüttelungen auf einem Uhrgläschen geringe, doch deutlich erkennbare reine Cnm. Reaktion.

VII. Ein relativ *gesunder Mensch* von ca. 30 Jahren erhält 1/2 Stunde n. d. Mahlzeit 0,2 Cnm.-HCl in einer Oblate innerlich. Vor der Einnahme Pulsfrequenz durchschnittlich 98 pro Minute. Nach 1/2 Stunde Puls 80 und unregelmässig. Nach 1 Stunde Puls 90. 2 Stunden nach Applik. Puls 92 pro Min. ; 3 Stunden, Puls 98 pro Min.

Patient klagte in der ersten Stunde über leichte Kopfschmerzen und Benommenheit; später — normal. Zur Untersuchung wurden gewonnen : Harn I = 160 c.c. 1 Stunde nach der Einnahme; Harn II = 160 c.c. 6 St. nach der Einnahme; Harn III = 200 c.c. 6 Stunden nach der Einnahme. Der Harn reagierte in allen Fällen schwach alkalisch. Von allen 3 Portionen wurden je 10 c.c. mit einigen Tropfen HNO_3 behandelt. In diesen Proben wurden nach ca. 10 Stunden Krystallbildungen von salpetersaurem oder harnsaurem Harnstoff und Harnsäure, keine Cnm.-HNO_3 Krystalle nachgewiesen. Der Rest des Harnes wurde zu folgenden Versuchen verbraucht : Port. I wurde mit H_2SO_4 angesäuert, bis ca. 30,0 gr. eingedampft und hierauf der Alkoholbehandlung unterworfen, doch wurden die späterhin folgenden Ausschüttelungen so gelatinös, dass sie meist nicht gut benutzt werden konnten. Harn II wurde vorsichtig bis auf ca. 45 c.c. eingedampft und dann der Bleibehandlung unterworfen. Analyse : in zum Teil krystallinischen Rückständen der ammoniakal. Benzolausschüttelung deutliche, reine Cnm.-Reakt. N°N° 2 und 4. Harn III, ebenso wie Harn II behandelt, ergab aus der ammoniakal. Benzolausschüttelung amorphe Rückstände, die deutliche Cnm.-Reaktion erkennen liessen.

FORTSETZUNG VON VII. Es wurden ferner von demselben Versuchsmenschen gewonnen : Harn IV — 14 Stunden nach der Einnahme — 30 c.c.; Harn V — 30 St. nach der Einnahme — 200 c.c. Vom Harn IV wurden 36 c.c. ohne Vorbereitungen direkt der Bleibehandlung unterworfen. Analyse : recht schwache Cnm.-Reakt. Der Rest vom Harn IV sowie Harn V und VI wurden bis auf je ca. 45 c.c. eingedampft und dann der Bleibehandlung unterworfen. Analysen, mit Rückständen der ammoniakalischen Benzolausschüttelungen, vom Harn IV : recht deutliche Cnm.-Reaktionen N° 2 und 4, vom Harn V : recht geringe Spuren einer Cnm.-Reaktion und vom Harn VI : keine Reaktion.

VIII. *Dieselbe Person* vom Versuch VII nahm 0,1 Cnm.-HCl in Form einer 2 % Lösung ein. Es wurde viel Wasser nachgetrunken. Pulsfrequenz vor der Einnahme durchschnittlich 100 pro Minute. Puls 3 Minuten nach der Einnahme = 92 pro Minute, 5 Minuten nach d. Einnahme = 90 p. M., 10 Min. n. d. Einnahme = 92 p. M., 30 Min. n. d. Einnahme = 86 p. M., 60 Min. n. d. Einn. = 84 p M. und recht schwach, 2 Stunden n. d. Einnahme = 96 p. Min. und recht deutlich. Ueber keinerlei Beschwerden wurde geklagt. Harn I, 30 c. c., eine halbe Stunde nach der Einnahme. Harn II, 50 c.c., 1 Stunde nach der Einnahme. Beide Portionen wurden ohne vorhergegangenes Eindampfen der Bleibehandlung unterworfen. Analysen : in Harn I aus keiner Ausschüttelung Cnm.-Rückstand; vom Harn II aus der ammoniak. Benzolausschüttelung geringe Rückstände, die die Cnm.-Reaktion N° 2 noch schwach erkennbar ergaben.

Ausserdem wurden verschiedene *Vorversuche,* sowie vergleichende *Probeversuche* angestellt *mit unvergiftetem Harn*, die ich weiter nicht anführe, ebensowenig wie diejenigen Versuche, wo die Untersuchungsobjekte äusserer Umstände halber verunglückten. Das hier Gesagte gilt auch für den folgenden Abschnitt meiner Arbeit.

XI. 53 c.c. 2 Tage alten *Kälberblutes* wurden mit 5 c.c. einer 1 % Cnm.-HCl-Lösung gemischt und unter häufigem Umschütteln 12 St. in der Wärme stehen gelassen. Methode : Alkoholbehandlung nach DRAGENDORFF (30). Analyse : amorphe Rückstände aus der ammoniakal. Benzolausschüttelung geben deutliche Cnm.-Reaktion N° 2; die Cnm.-Reaktion N° 4 variiert etwas. Geringe Proben des gereinigten, wässrigen

Untersuchungsobjcktes (vor den Ausschüttelungen) geben auch die $MnO_2 + HCl$ Reaktion auf Cnm., schwach erkennbar.

X. 50 c.c. 2 Tage alten *Kälberblutes* wurden mit 5 c.c. einer 2 prozent. Cnm.-HCl-Lösung genau derselben Behandlung unterworfen, wie beim Vers. IX. Analyse : dieselben Resultate wie bei IX, nur augenscheinlich intensivere Reaktionserscheinungen auch mit einigen anderen Cnm.-Reagentien.

4. Experimente mit Tiervergiftungen.

Versuch I. — Ein männlicher *Hund*, von 10,7 kg. Gewicht, erhält an 3 verschiedenen Körperstellen im Summa 10 c.c. einer 2 % Cnm. HCl-Lösung subkutan appliziert, also 18,8 milligr. pro Kilo Körpergewicht. Das Versuchstier wird in einem grossen Zimmer freigelassen und beobachtet.

Nach 15 Minnten treten charakteristische Erscheinungen ein. Zunächst Unsicherheit in den Bewegungen verbunden mit grosser Unruhe. Fernerhin ruckweise Rückwärtsbewegungen des Kopfes, die sich öfters wiederholen und es augenscheinlich machen, dass das Tier irgend welche Erscheinungen sieht, also Gesichts-Hallucinationen hat, vor denen es zurückschreckt. Diese Erscheinungen steigern sich bis zur 45ten Minute nach der Injektion zu einer enormen Intensität. Anfangs hat der Hund noch Appell, wedelt mit der Rute, hebt die Pfote, schreckt aber dabei mehrfach ruckweise, wie vor einem Abgrund zurück und kann sich nicht, oder nur wenig vorwärts bewegen. Kurz vor der 45ten Minute post Injekt. scheint das Tier weder auf Lockrufe und Streicheln seines Rückens, noch auf plötzlich hervorgebrachte Geräusche anders, als mit mehr oder weniger schwachem schreckhaftem Zusammenzucken zu reagieren. 45 Min. post Injekt. stürzt das Tier wie von einem Blitzschlage getroffen nieder und bekommt einem epileptiformen Krampfanfall, der ununterbrochen ca. 4 Min. andauert und den ganzen Körper betrifft. Pupillen dabei ad maximum erweitert. Trismus, Dyspnöe. Anfänglich klonische, fernerhin tonische Zuckungen scheinbar in sämtlichen Muskeln ; kein Tetanus. Das Maul ist halb geöffnet. Salivation mit Schaumbildung. Die Zunge ragt aus dem Halse. Auffallend sind einzelne besonders heftige klonische Krämpfe in den Nackenmuskeln. Nach ca 4 Min. geht der Anfall ebenso plötzlich vorüber, wie er gekommen ist, indem das Tier plötzlich aufspringt, schnell in die entfernteste Ecke des Zimmers läuft und sich mit augenscheinlich sehr grossem Angstgefühl zu verstecken sucht. Darauf treten beim Tier wieder ganz ähnliche Erscheinungen auf, wie vor dem Krampfanfall. Diese Erscheinungen werden noch nach Stunden beobachtet, wobei sie ersichtlich allmählich an Intensität abnehmen. 14 Stunden post Injekt. ist das Tier bis auf einige Mattigkeit scheinbar ganz normal.

17 Stunden nach der ersten Injektion erhält derselbe Hund in derselben Art und Weise 0,3 gr. Cnm. HCl subkutan, d. h. 28 milligr. pro Kilo. — Als Beobachtungsresultate sind dieselben Erscheinungen zu verzeichnen, wie sie eben beschrieben wurden, nur scheinen die Hallucinations-Erscheinungen später einzutreten um sich in kürzerer Zeit zu grosser Intensität zu entwickeln. 34 Min. nach der 2ten Injekt. bekommt der Hund einen ganz ähnlichen Krampfanfall, wie eben beschrieben worden ist. Der Anfall dauert 2 1/2 Min. Nach dem Anfall bleibt der Hund 5 Min. auf dem Bauch liegen und scheint sehr ermattet. Hierauf dieselben Erscheinungen, wie vor dem Anfall.

18 Stunden nach der ersten und 1 Stunden nach der zweiten Injektion bekommt der Hund nochmals 0,3 Cnm. HCl subkutan appliziert, d, h. 28 milligr. pro Kilo.

Zunächst Erscheinungen wie oben, nur noch intensiver. 30 Min. nach der letzten Injektion : erster Krampfanfall von 2 3/4 Min. Dauer. Hierauf grosse Mattigkeit. Der Hund liegt meist auf dem Bauch und hat im übrigen Erscheinungen wie oben. Er atmet kurz und schnell, wobei die Zunge aus dem Halse ragt. 62 Min. nach der letzten Injektion : zweiter Krampfanfall von 1 1/2 Minuten Dauer. Erscheinungen wie oben. Hinterher grosse Mattigkeit. Das Versuchstier wird für kurze Zeit allein gelassen. 2—3 Stunden nach der letzten Injektion hat das Tier wiederholte kurz andauernde Krampfanfälle. Da befürchtet wird, dass das Tier stirbt, wird es der Blutuntersuchung halber aufgebunden und durch Entbluten aus der Carotis ext. getötet.

SEKTION : Auf den Lungenlappen kleine, rote, subpleural sitzende Pünktchen (Blutaustritte). Im Magen viel Schleim (heruntergeschluckter Speichel, etwas Galle). Im übrigen alles normal.

ZUR CHEMISCHEN UNTERSUCHUNG wurden von diesem Versuchstiere folgende *Objekte* gewonnen : 1. *Harn,* in Summa 160 c. c. (80 c. c. hatte der Hund freiwillig nach der zweiten Injekt. abgelassen, wobei fast alles aufgefangen werden konnte, und, 80 c. c. ergaben sich bei der Sektion). 2. *Blut,* in defibriniertem Zustanden 400 c. c. ergebend. Es wurde 24 Stunden in der Kälte stehen gelassen, wobei sich, wie immer beim Hunde, nur wenig Serum abgeschieden hatte. 3. *Speichel* in geringer Menge während der Salivation vom lebenden Tier gesammelt. 4. *Mageninhalt :* Schleim (heruntergeschluckter Speichel, etwas Galle) etc. 5. *Magenschleimhaut,* wird in Alkohol aufbewahrt. 6. *Dickdarm,* in Alkohol. 7. *Dünndarm, unterer,* in Alkohol. 8. *Dünndarm, oberer,* in Alkohol. 9. *Nieren,* in Alkohol. 10. *Galle.* 11. *Milz* in Alkohol. 12. *Leber,* wog 320,0 gr. Je 1/8 von ihr wurde gesondert behandelt : a) 40,0 gr., im Alkohol, b) 40,0 gr., wurden in feuchter Wärme faulen gelassen. 13. *Pankreas,* in Alkohol. 14. *Gehirn,* in Alkohol.

Von denjenigen Untersuchungsobjekten, die in Alkohol gelegen hatten, wurde natürlich der Alkohol vor der Inarbeitnahme abgedunstet.

Resultat der Analyse. — *Harn* relativ sehr reich an Cnm.

Blut wurde in 4 Teilen gesondert behandelt :

A) 100 c.c. Alkoholbehandlung nach DRAGENDORFF, sehr geringe Spuren einer Cnm. Reaktion.

B) 100 c.c. Behandlung mit Essigsäure und kochendem Wasser, etc., sehr geringe Spuren einer Cnm. Reaktion.

c) 100 c.c. Versuch, direkt in der Kälte mit Benzol auszuschütteln, missglückte.

D) 100 c.c. Behandlung mit Zinksulfat und Ferrocyankalium, etc., keine Cnm. Reaktion.

Speichel, alkaloidfrei.

Mageninhalt, ziemlich deutliche Cnm. Reaktion.

Magenschleimhaut, alkaloidfrei.

Dickdarm, recht reichliche Cnm. Reaktion.

Dünndarm, unterer, | *Dünndarm, oberer*, | deutliche Cnm. Reaktion, geringer als im Dickdarm.

Nieren, recht reichliche Cnm. Reaktion.

Galle, entging der Untersuchung.

Milz, ziemlich schwache Cnm. Reaktion.

Leber, a) (frische) recht deutliche Cnm. Reaktion.

Leber, b) (gefaulte) deutliche Cnm. Reaktion, doch augenscheinlich schwächer als in dem in Alkohol konservierten und 1 Monat früher untersuchten Teile derselben.

Pankreas, sehr schwache Cnm. Reaktion.

Gehirn, sehr schwache Cnm. Reaktion.

Der Versuch ergiebt, dass *das Cnm. für Hunde ein heftiges Krampfgift ist*. Der Charakter der Krämpfe ist derartig, dass wir als Ausgangspunkt derselben unbedingt das *Gehirn*, entweder allein, oder doch wenigstens neben dem *Rückenmark* bezeichnen müssen. Die eintretenden epileptoiden Anfälle machen den Eindruck, als werde das Tier in den nächsten Minuten sterben; statt dessen erholt es sich aber auffallend rasch; bei der wirklichen Epilepsie ist dies ja ebenfalls der Fall.

Harn und Blut(1) *enthielten*, wie zu erwarten war, *Alkaloid;* der Speichel dagegen, welcher ja wie der Harn Gifte häufig zur Ausscheidung bringt, war alkaloidfrei. Sehr bemerkenswert war dagegen, dass ich *das Gift in der Schleimhaut, namentlich des Dickdarms reichlich* nachweisen konnte. Unsere bisherigen Kenntnisse über die Ausscheidung der Alkaloide aus dem Blute durch die Schleimhaut des Magendarmkanals sind recht unvollkommene. Nach den Arbeiten von Leineweber (33) und denen des Dorpater pharmakologischen Institutes ist fast nur für Atropin, Chinin, Strychnin, Berberin, Hydrastinin, Carpain und Morphin derartiges nachgewiesen worden. Ich glaube daher, dass mein Nachweis des Cinchonamin in der Dickdarmschleimhaut eine wesentliche Lücke unserer Kenntnisse über das physiologisch-chemische Verhalten der Alkaloide ausfüllt. Vom Morphin unterscheidet sich unser Alkaloid dadurch sehr wesentlich, dass dieses

(1) Es ist zu berücksichtigen, dass nur Teile vom Blut zur Untersuchung gelangten und dass 2 1/2 bis 3 Stunden von der letzten Giftinjektion bis zur vorgenommenen Entblutung vergangen waren.

nach ABT (34), BAUMERT (34) und MARQUIS (39) hauptsächlich durch Magen und Speichel zur Ausscheidung kommt, während mein Alkaloid diese beiden Wege nicht wählt.

Eine andere, wichtigere, speziell die gerichtliche Chemie interessierende Frage findet dahin Beantwortung, dass ich das Gift zwar in der 1 Monat lang gefaulten Leber nachgewiesen habe, dass aber der Fäulnisprozess doch nachteilig für den Nachweis gewirkt hatte : es waren nicht allein quantitative Unterschiede zu beobachten, sondern auch qualitative insofern, als die betreffenden Farbenreaktionen etwas getrübt resp. anders nüanciert eintraten, was wohl auf den Einfluss mit abgeschiedener Ptomaïne zurückzuführen sein wird.

Versuch II. — Eine *Katze* von 2,6 kgr. erhält 6 c.c. einer 2 °/o Cnm. HCl-Lösung subkutan, d. h. 43 milligr. pro Kilo Körpergewicht. Das Versuchstier befindet sich in einem Käfig.

4 Min. post Injekt. ist das Tier sehr unruhig. 7 Min. p. Inj. erster plötzlicher Krampfanfall. Klonische Zuckungen. Genickstarre. Schwache Salivation mit relativ reichlicher Schaumbildung. Dauer d. Anf. ca. 1 Min. 9 Sek. p. Injektion 2ter, 10 Min. p. Inj. 3ter Anf. — Fernerhin fast jede Minute Krampfanfälle von je 1/2 bis 1 Min. Dauer. Dabei Allgemeinerscheinungen wie oben. Ab und zu tonische Zuckungen in den Hinterbeinen. Das Tier liegt auf dem Bauch oder der Seite; es will bisweilen nach den Anfällen aufstehen, kann aber nicht. Hierbei immer hochgradige Dyspnöe. Parese der Extremitäten nicht beobachtet.

20 Min. nach der Injektion wird das Tier aufgebunden und wie bei Exp. I entblutet. Das Blut wird defibriniert. Darauf wird das Tier *nach der im Dörptschen pharmakologischen Institut üblichen Methode mit Zuckerkochsalzlösung durchspült*, bis die Flüssigkeit aus der Hohlvene klar abfliesst. Diese Methode hat den Zweck, den letzten Rest von Blut, welcher bei der Entblutung im Organismus verbleibt, noch zu entfernen. Es gelingt dabei die Organe der Bauchhöhle, mit einziger Ausnahme der Milz, und von Organen anderer Körperteile das Gehirn aber z. B. nicht das Knochenmark blutfrei zu machen.

Der Sektionsbefund erweist keine abnormen Erscheinungen.

Zur *Chemischen Analyse* gelangten von diesem Experiment folgende *Objekte :*

1. *Speichel,* in sehr geringer Menge während der Anfälle vom Tier gesammelt. 2. *Blut,* in defibr. Zustande 32,0 gr., wird 2 × 24 Stunden in der Kälte stehen gelassen. Die gut abgesetzten *Blutkörperchen a*) werden vom *Serum b*) getrennt behandelt. 3. *Harn,* 8 c.c. bei der Sektion gewonnen. Vom *Dickdarm* 4., *unter. Dünndarm* 5., *ober. Dünndarm* 6. und *Magen* 7. wurden die *Schleimhäute* von der Muskulatur abgeschabt und kamen allein zur Verwendung. 7. *Pankreas.* 8. *Niere* (nur eine wurde benutzt). 9. *Leber,* wog 80,0 gr. Nur 1/4 T. = 20,0 gr. wurde benutzt. 10. *Gehirn.* — Abstand

wurde bei diesem Experiment genommen, aus verschiedenen Gründen, von einer Untersuchung des Mageninhalts, der Galle und der Milz. Bei der Milz hauptsächlich daher, weil ihre Untersuchung aus oben genanntem Grunde keine Klarheit darüber verschafft hätte, ob event. gefundenes Gift im Organ selbst gesteckt hat, oder auf seinen Blutgehalt zurückzuführen sei.

Im übrigen wurden diesmal die einzelnen Organe nicht in Alkohol konserviert, sondern gelangten meist schnellstens zur Untersuchung. Alle Organe wurden vor der Inarbeitnahme wiederholt mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Speziell das Gehirn wurde, um die letzten Reste des anhaftenden Blutes aus den Venen und Adern zu entfernen, in kleine Stücke zerschnitten und durch wiederholtes Auswaschen mit grösseren Mengen destillierten Wassers vom Blut befreit.

Resultat der Analyse. — *Speichel,* keine Reaktion.

Blut : a) Blutkörperchen
b) Serum } sehr reichliche Cnm.-Reaktion.

Harn, keine Reaktion.

Dickdarm, deutl. Cnm.-Reaktion.

Dünndarm, unter.
Dünndarm, ober. } weniger deutl. Cnm.-Reaktion als im Dickdarm.

Magenschleimhaut, keine Reaktion.

Pankreas, Untersuchungsobjekt verunglückte.

Niere, geringe Spuren einer Cnm.-Reaktion.

Leber, weniger deutliche Cnm.-Reaktion als im Dünndarm.

Gehirn, schwache Cnm.-Reaktion.

Bei Beurteilung der Analysenresultate ist zu berücksichtigen, dass von der Niere und Leber nur Teile zur Untersuchung gelangten. Auch glaube ich hinzufügen zu müssen, dass ich bei allen Experimenten im unteren Teil des Dünndarms eine scheinbar stärkere Reaktion erhielt, als im oberen. Wo dieser Unterschied deutlich zu Tage trat, habe ich ihn gehörigen Ortes vermerkt.

Das Ergebnis dieses Versuches stimmt zu dem des vorhergehenden.

Versuch III. — Ein grosser Kater von 3,5 kgr. erhält 2,5 c.c. einer 2 % Cnm.-HCl-Lösung, entsprechend einem Gehalt von 0,05 gr. Cnm. HCl = 14,3 milligr. pro Kilo Körpergewicht, subkutan. Das Tier befindet sich in einem genügend geräumigen Käfige.

30 Min. post Injekt. wird das Tier unruhig, schreit wiederholt, sieht sich oft um und hat augenscheinlich Hallucinationen. Knurren. Pupillen klein. Nach 50 bis 60 Min. deutliche Erscheinungen von Angstanfällen. Fürchtet sich vor jedem Geräusch, dabei zusammenzuckend und mit Knurren reagierend. 70 Min. post Inj. Tobsuchtanfall : wirft

sich an die Sparren des Käfigs. Schreit wiederholt laut. Auf hervorgebrachte Geräusche, oder wenn sich ein Mensch dem Käfig naht, zeigt das Tier grosse Angst und reagiert mit Knurren und Fauchen. Pupillen klein.

1 Stunde 20 Min. nach der ersten Injektion erhält der Kater wieder 0,05 Cnm.-HCl in derselben Form, Art und Weise wie oben appliziert.

15 Min. nach der 2ten Inj. beginnen die Erscheinungen grosser Angst, verbunden mit Hallucinationen wie oben, mit Tobsuchtanfällen abzuwechseln. Die Tobsuchtanfälle treten intensiver als oben auf. 40 Min. p. 2. Inj. starker Tobsuchtanfall. Der Kater wirft sich an die Sparren des Käfigs, bricht plötzlich zusammen und bekommt 2 Stunden 1 Min. nach der ersten und 41 Min. nach der letzten Injektion einen intensiven Krampfanfall. Klonische Krämpfe. Pupillen stark erweitert. Dyspnöe. Dauer des Anf. 90 Sek. Der Kater springt plötzlich auf die Beine. Angstanfall. Tobsuchtanfall. Das Tier wird ruhiger und scheint sehr errmattet, erholt sich aber doch scheinbar wieder.

2 St. 40 Min. nach der ersten und 1 St. 20 Min. nach der zweiten Inj. bekommt der Kater wie früher 0,05 Cnm. HCl subkutan.

Nach ca. 8 Min. treten Angsterscheinungen. etc. wie oben ein, nur noch intensiver. Das Tier hebt die Pfote, will sich vorwärts bewegen und scheut zurück. Die Erscheinungen steigern sich rapid und werden intensiver. Salivation. 37 Min. nach der letzten Injektion Krampfanfall. Klonische Krämpfe. Hochgradige Dyspnöe. Dauer des Anfalls 35 Sek. Ebenso plötzlich wie oben wirft sich das Tier nach dem Anfall auf die Beine. Hierauf kurzer Angst- und Tobsuchtanfall. Zum Schluss sehr ermattet.

3 St. 40 Min. nach der ersten, 2 St. 20 Min. nach der zweiten und 1 Stunde nach der dritten Injekt. erhält der Kater die vierte und letzte Subkutaninjektion von 0,05 gr. Cnm.-HCl wie früher appliziert.

Bald treten oben beschriebene Erscheinungen auf, nur noch intensiver : Angst, Hallucinationen, Knurren, Fauchen, etc. 10 Min. post Injekt. wilde Delirien. Der Kater wirft sich in rasender Wut an die Sparren des Käfigs, dann auf den Boden. Auf dem Boden des Käfigs liegend dreht das Tier sich wiederholt schnell um seine Längsachse und schlägt wild mit den Pfoten um sich, als ob es unsichtbare Feinde abwehren wollte. Kein Geschrei. Dieser Anfall geht 14 Min. p. Inj. plötzlich in einen Krampfanfall über : Klonische Krämpfe, hochgradige Dyspnöe, Salivation mit Schaumbildung. Hierbei wurde noch ein kurzer, tetanusartiger Krampfanfall beobachtet. Nach dem Krampfanfall wirft das Tier sich wieder plötzlich auf die Beine, es folgt ein kurzer Tobsuchtanfall. Klägliches Geschrei. Wütendes Knurren. Hierauf wieder wildes Rasen. Delirien. Das Tier liegt dann wieder meist auf dem Rücken und schlägt wild mit den Pfoten um sich, sich ab und zu schnell um die Längsachse wälzend. Dyspnöe. Dieser Anfall geht wieder plötzlich in klonische Krämpfe über, wobei auch wieder ein kurzer tetanusartiger Krampfanfall beobachtet wird. Von nun ab, 19 Min. nach der letzten Injektion, wechseln recht schnell Krampfanfälle mit scheinbar momentanen lichten Augenblicken und deliriumartigen Anfällen, welche letztere jedoch nicht mehr mit Wälzen um die Längsachse verknüpft sind, ab. Von den letztbeobachteten Krampfanfällen dauert der kürzeste 18, der längste 66 Sekunden. Die Erscheinungen werden immer intensiver. 25 Min. n. d. letzten Inj. fällt das Tier fast aus einem Krampfanfall in den anderen, bei kurzen Zwischenpausen, wo es meist liegt und wild mit den Pfoten um sich schlägt. Die längste Pause zwischen den Krampfanfällen wird mit 25 Sek. beobachtet, wobei die Schlag-

bewegungen mit den Pfoten an Intensität sichtlich schwächer werden. Die klonischen Krampfanfälle haben zum Schluss eine Dauer von 16 bis 45 Sekunden. Dabei immer hochgradige Dyspnöe, Salivation mit Schaumbildung.

Während der Kater fortwährend Krampfanfälle bekommt wird er 4 St. 10 Min. nach der ersten, 2 St. 50 Min. nach der zweiten, 1 St. 30 Min. nach der dritten und 30 Min. nach der vierten Subkutaninjektion vom im ganzen 0,2 gr. Cnm.-HCl = 57 milligr. pro Kilo Körpergewicht, aufgebunden und in derselben Art und Weise, wie bei Experiment II beschrieben worden ist, aus der Carot. ext. entblutet. Die *Ausspülung des Gefässsystems* mit mehreren Litern Zuckerkochsalzlösung wurde sehr gründlich vorgenommen.

DIE *Sektion* ergab keine besonders bemerkenswerten Erscheinungen. Im Darm Zeichen relativ reichlicher Gallenabsonderung, besonders im Dickdarm. Die Ausspülung konnte als sehr gelungen betrachtet werden : sogar in der Milz war kein Blut mehr nachweisbar.

ZU *Objekten des Nachweises* des Cinchonamin dienten mir von diesem Experiment : 1. *stark gewaschene Blutkörperchen;* diese wurden gewonnen aus der ca. 6 Liter betragenden Zuckerkochsalzausspülflüssigkeit. Letztere wurde zunächst von einigen herumschwimmenden Klumpen geronnenen Blutes befreit und dann in grossen, hohen Gefässen (Cylindern) auf mehrere Tage zum Absetzen in der Kälte hingestellt. Hierauf wurden die gesammelten Blutkörperchen wiederholt mit grösseren Mengen Zuckerkochsalzlösung ausgewaschen. Der ganze Prozess dauerte ca. 2 Wochen, weil die Blutkörperchen sich in der spezifisch nicht viel leichteren Flüssigkeit nur langsam zu Boden setzten. 2. *Serum,* vom defibrinierten Blut durch Absetzenlassen der Blutkörperchen gewonnen. 3. *Speichel,* in sehr geringer Menge gesammelt in der Zeit wo das Tier aufgebunden und entblutet wurde. 4. *Harn,* 15 c.c., gewonnen bei der Sektion. 5. *Gehirn,* schön weiss, sehr gut ausgewaschen. 6. *Rückenmark,* rein weiss, sehr gut ausgewaschen. 7. *Milz* (2), relativ gut ausgewaschen, wird in kleine Stückchen zerschnitten und mit Wasser gut nachgespült. 8. Die 2 grossen *Lymphdrüsen* an der radix *Mesenterii*. 9, *Muskelfleisch* vom Oberschenkel des Hinterbeines, 60,0 gr. 10. *Leber,* 100 gr. und zwar *a*) 50,0 frisch behandelt, *b*) 50,0 faulen gelassen. 11. *Nieren* u. zw. *a*) 1 Niere frisch behandelt, *b*) 1 Niere 1 Monat faulen gelassen. 12. *Pankreas*. 13. *Galle*. Aus den bei Experiment I diesbezüglich gemachten Erfahrungen und sonstigen Erwägungen wurde folgende Methode zur Gallenuntersuchung abstrahiert und für diesesmal angewandt : Zuerst Alkoholmethode. Dann 3maliges Ausschütteln der gereinigten, wässrigen, ammoniakalisch gemachten Flüssigkeit mit Chloroform. Die vereinigten filtrierten Chloroformauszüge werden durch dreimaliges Schütteln mit schwefelsäurehaltigem Wasser extrahiert. Die

vereinigten, filtrierten Wasserauszüge werden ammoniakalisch gemacht und mit Benzol ausgeschüttelt. Verdampfen des Benzols auf Uhrgläschen. 14. *Mageninhalt :* ca. 10 c.c. einer trüben Flüssigkeit. 15. *Magenschleimhaut.* 16. *Schleimhaut des unteren Dünndarms.* 17. *Schleimhaut des oberen Dünndarms.* 18. *Schleimhaut des Dickdarms.*

Resultate der Analyse. — *Blutkörperchen* (gewaschene) — höchstens Spuren einer Cnm. Reakt.

Serum, deutliche Cnm. Reakt.

Speichel, keine Reakt.

Harn, sehr reichliche Reakt.

Gehirn, mässig deutliche Reakt.

Rückenmark, keine Reaktion.

Milz, recht schwache Reakt.

Muskelfleisch, keine Reaktion.

Leber a), frische, recht deutliche Reakt.

Leber b), gefaulte, sichtlich viel schwächere Reakt. als bei *a.*

Niere a), frische, deutliche Reakt.

» *b), gefaulte,* sehr wenig deutl. Reakt.

Pankreas, ziemlich deutliche Reakt.

Galle, keine Reaktion.

Mageninhalt, ziemlich deutl. Reakt.

Magenschleimhaut, wenig deutl. Reaktion.

Ober. Dünndarm, mässig deutliche Reaktion.

Unter. Dünndarm, mässig deutliche Reaktion.

Dickdarm, sehr reichliche Cnm. Reakt.

Es kann also kein Zweifel sein, dass, wie ich schon oben angegeben habe, *das Cinchonamin vom Blute aus reichlich in die Dickdarmschleimhaut übergeht und von dieser wohl an den Kot abgegeben wird.* Ebenso stimmen die Ergebnisse dieses Versuches in allem übrigen mit denen der vorhergegangenen überein, nur dass diesesmal auch noch *in der Magenschleimhaut geringe Mengen Cnm.* nachgewiesen werden konnten.

Da von den bisherigen Experimenten nur geringere Mengen Speichel zur *Untersuchung* gelangten, wurde noch der bei dem späterhin angegebenen Blutdruckversuch von einem Kater gesammelte *Speichel, 7 c.c.,* verarbeitet. Ergebnis der *Analyse :* keine Cnm.-Reaktion.

5. Facit für die gerichtlich chemische-Praxis.

Das Cinchonamin kann, nachdem es ausserhalb oder innerhalb des Organismus mit tierischen Flüssigkeiten und Geweben in Berührung

gewesen, soweit wieder aus diesen Geweben resp. Flüssigkeiten abgeschieden werden, dass sein Nachweis mittelst einiger der von mir gefundenen Reaktionen gut gelingt. Beim Abscheidungsprozess nach Dragendorff (30) reiht sich das Cnm. den Produkten aus der ammoniakalischen Benzolausschüttelung an. Zur Ausscheidung gelangt das Gift aus dem Körper hauptsächlich durch den Harn und Dickdarm. Es hat also der Gerichtschemiker bei einer Cinchonamin-Vergiftung mit letalem Ausgang nachfolgende Objekte, die nach Belieben, in Alkohol, wenigstens für eine kürzere Zeit konserviert werden können, zu der Expertise zu berücksichtigen: 1tens Harn, in welchem das Gift nach Applikation *per os* schon 1 Stunde und noch 30 Stunden nach der Einnahme nachzuweisen ist. 2tens Faeces, 3tens Darmtractus, speziell Dickdarmschleimhaut, 4tens Leber, 5tens Nieren. — Bei einer Subkutanvergiftung gelingt es ca. 2 Stunden nach der Applikation das Gift im Blut noch nachzuweisen und ist für Blutuntersuchungen speziell das Serum zu berücksichtigen. Ebenso muss auch der Mageninhalt, wie selbstredend bei stattgehabter Vergiftung *per os*, zur Untersuchung gelangen. Berücksichtigt könnten ferner noch werden: Pankreas, Milz, Magenschleimhaut, Gehirn. Ganz Abstand kann bei einer Cnm.-Vergiftung genommen werden von einer Untersuchung des Speichels, der Galle, des Muskelfleisches und des Rückenmarkes. Bis zu einem Monat nach dem Tode durch Cnm.-Vergiftung gelingt es den Nachweis des Giftes im stark in Fäulnis übergegangenen Körper zu führen, wahrscheinlich auch noch in einer etwas längeren Zeit, doch wirkt offenbar der Verwesungsprozess hier schliesslich recht hindernd.

Zum Zweck der Sicherung der Diagnose am Lebenden empfiehlt sich die Untersuchung des Harns.

IV. Ueber die Wirkungsweise des Cinchonamin.

1. Beziehungen zur Blutgerinnung.

Auf 6 Reagensgläsern wird die obere Grenze von je 2,0 Wasser markiert. In drei der Gläser wird mittelst einer Pipette je 1 c.c. physiologische Kochsalzlösung gehebert. In die drei anderen Gläser wird in gleicher Weise je 1 c.c. einer 0,25 %, einer 0,5 % und einer 1 % wässrigen Cnm.-HCl-Lösung gebracht. Jetzt wird von einem Kaninchen aus der Carot. ext. durch eine Kanüle in die 6 Gläser Blut bis zu den vorher markierten Zeichen abgezapft. Die Gläser werden schnell einige Mal umgeschüttelt und stehen gelassen. Nach einigen Stunden wird das Blutgemisch in allen Gläsern geronnen vorgefunden. In den Gläsern mit physiol. Kochsalzlösung hat sich eine gewisse Menge Serum deutlich abgeschieden. In den Gläsern mit Cnm.-HCl ist bei der 1 % Lös. keine Spur von Serum auch nach 20 Stunden zu bemerken, bei der 0,5 % Lös. eine sehr

geringe Spur und bei der 0,25 % Lös. eine gewisse Menge, aber sichtlich weniger als bei den Parallelversuchen. Ausserdem liess sich der Inhalt von den Gläsern mit den Cnm.-Lösungen, besonders der 1 %, durch kurzes Schütteln in einen flüssigen Zustand überführen, wogegen solches bei den Parallelversuchen mit Kochsalzlösung nur nach relativ längerer energischer Behandlung gelang.

Bei einem vorhergegangenen, im übrigen ganz ähnlichen Versuch, waren die Gläser mit den Cnm.-Lösungen gleich nach Zusatz des Blutes ca. 1/4 Stunde ziemlich kontinuierlich geschüttelt, die Gläser vom Parallelversuch mit der Kochsalzlösung dagegen wie oben behandelt worden. Nach einigen Stunden der Ruhe konnte man die Gläser vom Parallelversuch umkehren ohne dass etwas verloren ging, während der Inhalt der Cnm.-Blutgläser flüssig geblieben war und bei der 1 % Cnm.-Lösung auch nach 24 Stunden keine, bei den anderen beiden Cnm.-Lösungen nur geringe Fibringerinnsel zeigte.

Aus dem Obigen ergiebt sich, dass das Cinchonamin die normale Fibringerinnung und nachherige Serumauspressung aus den Blutkuchen in der Weise stört, *dass eine feste Gerinnung und eine Serumabscheidung gar nicht zustande kommt.*

2. Bestimmung der letalen Dosis.

Versuch mit subkutaner Applikation. — Ein männlicher *Hund* (Dachs) von 4,2 kgr. bekommt 0,02 Cnm.-HCl subkutan = 4.8 milligr. pro Kilo Körpergewicht. Keine Erscheinungen, Hund normal.

2 × 24 Stunden nach der ersten Injektion erhält der Hund 0,06 Cnm.-HCl = 14 milligr. pro Kilo Körpergewicht subkutan. 35 Min. nach der Inj. treten schwache Erscheinungen auf, wie sie bei Experiment I im forensisch-chemischen Abschn. dieser Arbeit beschrieben worden sind : Unruhe, schwache Hallucinationen etc. Der Hund taumelt etwas, ist aber nach 2 Stunden wieder ganz normal.

4 × 24 Stunden nach der ersten und 2 × 24 Stunden nach der zweiten Injektion erhält der Hund 0,1 Cnm.-HCl = 24 milligr. pro Kilo Körpergewicht subkutan. Nach ca. 18 Min. sind die ersten oben beschriebenen Erscheinungen zu beobachten, die schnell an Intensität zunehmen. 32 Min. p. Inj. bekommt der Hund einen 75 Sekunden andauernden Krampfanfall, nach welchem er plötzlich auf die Beine springt, wieder oben beschriebene Erscheinungen hat und sich allmählich erholt. Der Krampfanfall verlief in allen seinen Erscheinungen analog dem erstbeschriebenen Anfall vom Experiment I im forens.-chemischen Teil meiner Arbeit.

2 × 24 Stunden nach der letzten Injektion bekommt der seit über 40 Stunden wieder ganz normal erscheinende Hund um 9 Uhr 40 Min. 0,2 gr. Cnm.-HCl = 48 milligr. pro Kilo Körpergewicht subkutan. Der Hund befindet sich in einem geräumigen Zimmer.

Zeit.	Nr	Dauer der Krampfanfälle.	Bemerkungen.
9 h. 45′			Die ersten oben wiederholt beschriebenen Erscheinungen schwach zu bemerken — Hallucinationen etc.

Zeit.	Nr	Dauer der Krampfanfälle.	BEMERKUNGEN.
9 h. 50'			Erscheinungen steigern sich intensiv— Hallucin., Angst etc.
53'	1	40 Sekund.	Die epileptiform. Krampfanfälle verlaufen gleichfalls wesentlich wie bei Exp. I vom forens.-chem. Teil (p. 312.) Hund bleibt nach dem Anfall liegen.
55'			Schlägt mit den Pfoten, erhebt sich u. wackelt wie benommen.
57'			Fällt hin. Erhebt sich wieder und bewegt sich vorwärts.
58'			Hallucinat. etc. werden immer intensiver. Lässt Kot. Kurzer Krebsgang, intensive Angst-Erschein. Dann plötzliche Ruhe; — liegt 1/2 Min. auf dem Bauch. Hierauf wieder intensive Erschein., Angst, Hallucin. etc. verbunden mit starkem Zittern des ganzen Körpers.
10 h. 11'	2	23 Sekund.	Bei den Krämpfen sind fast immer die Beine nach vorne ausgestreckt.
14'	3	13 »	Liegt nach dem Krampfanfall auf dem Rücken und schlägt mit den Pfoten um sich.
15'	4	9 »	
16'	5	7 »	Salivation sehr gering. Dyspnöe bedeutend.
20'	6	11 »	Versucht bisweilen nach den Krampfanfällen aufzustehen, was nie gelingt.
24'	7	13 »	
27'	8	17 »	Liegt fast immer auf dem Rücken oder wälzt sich herum und schlägt mit den Pfoten um sich.
32'	9	15 »	
35'	10	12 »	Nach allen folgenden Krampfanfällen wälzt der Hund sich meist wild herum, mit dem Kopf wiederholt heftig auf die Diele stossend und mit den Pfoten um sich schlagend. Hochgradige Dyspnöe. Dabei nie starke Salivation u. keine grössere Schaumbildung (beides bei den Katzen viel reichlicher).
37'	11	8 »	
39'	12	13 »	
41' 30''	13	8 »	
43'	14	11 »	
45'	15	13 »	
46'	16	10 »	
47' 30''	17	14 »	
49' 30''	18	8 »	
52' 30''	19	8 »	
53' 30''	20	10 »	
55'	21	11 »	Auf 5 Minuten wird ein Maximalthermometer in den Anus gesteckt: Temperatur 37,3°. 1 Monat nach diesem Versuch wird die durchschnittliche Normaltemperatur desselben Tieres auf dieselbe Weise mit 38,9° festgestellt.
56' 30''	22	12 »	
58' 30''	23	12 »	
11 h.	24	10 »	
2'	25	9 »	
3' 30''	26	10 »	
5'	27	9 »	
6' 30''	28	12 »	
8' 30''	29	8 »	
10'	30	11 »	
11' 30''	31	10 »	Temperat. 37,7°.
13' 30''	32	10 »	

Zeit.	Nr	Dauer der Krampfanfälle.	BEMERKUNGEN.
11 h. 15′	33		Temperat. 37,7°
16′ 30″	34		
18′	35		
19′	36	13 »	
21′	37	11 »	
22′ 30″	38	10 »	
23′ 30″	39	14 »	
25′	40	12 »	
26′ 30″	41	12 »	
28′ 15″	42	10 »	
30′	43	11 »	Mehr auf der Seite als auf dem Rücken liegend, doch dabei fast immer mit den Pfoten herumschlagend. Schüttelt sich bisweilen nach den Anfällen.
31′ 30″	44	8 »	
32′ 30″	45	10 »	
34′ 15″	46	12 »	
35′ 30″	47	13 »	
37	48	11 »	
38′ 30″	49	13 »	
40′	50	14 »	
41′ 30″	51	12 Sekund.	
43′	52	13 »	
44′ 30″	53	16 »	
46′	54	14 »	
47′ 30″	55	1[illegible] »	
49′	56		Temperatur 37,3°.
50′ 30″	57		
52′	58		
53′ 30″	59		
55′	60		
56′ 30″	61	15 »	
58′	62	15 »	
59′ 30″	63	18 »	
12 h. 1′ 30″	64	12 »	
3′	65	11 »	Will vorgehaltenes Wasser lecken, kann aber nicht.
5′	66	16 »	
7′	67	15 »	
9′	68	11 »	Leckt etwas Wasser in der Krampfpause. Liegt fast ausschliesslich von nun ab auf der Seite.
10′ 30″	69	14 »	
12′ 30″	70	13 »	
14′ 30″	71	14 »	
17′	72	17 »	
19′ 30″	73	10 »	
22′	74	14 »	

12 h. 26' 30''	75	11	»	Leckt etwas Wasser. Hierauf tritt eine 20 Minuten andauernde Periode ein, in der keine ausgesprochenen Krampfanfälle beobachtet werden können, sondern kontinuierliche Zuckungen des ganzen Körpers. Schlagen mit den Pfoten.
45'	76			
53'	77	12	»	Temperatur 35,6°.
55'	78			
				Wieder Periode kontinuierlicher, krampfartiger Zuckungen, wie oben.
1 h. 3'	79			Deutlicher epileptiformer Krampfanfall.
8'	80			Ein ausgesprochener Krampfanfall.
				Periode kontinuierlicher krampfartiger Zuckungen.
20'	81			Ein ausgesprochener Krampfanfall.
25'				Leckt etwas Wasser, das vor das Maul gehalten wird.
				Beständige krampfartige Zuckungen des Körpers.
30'	82			Kurzer Krampfanfall.
				Periode kontinuierlicher, krampfartiger Zuckungen.
34'	83	12	»	Kurzer Krampfanfall.

Es folgt eine Periode, in welcher noch diverse ausgesprochene epileptiforme, kurz andauernde und allmählich schwächer werdende Krampfanfälle mit Zuständen abwechseln, in welchen nur ziemlich kontinuierliche krampfartige Zuckungen und beständiges Zittern des ganzen Körpers, Kopfes und der Extremitäten zu beobachten sind. Dabei liegt der Hund meist auf der Seite, selten auf dem Rücken und leidet augenscheinlich grossen Durst, kann aber nur selten etwas von dem ihm vorgehaltenen Wasser lecken. Wiederholt schlägt der Hund hart mit dem Kopf auf den Boden auf, besonders wenn er sich erheben will, was nie gelingt. Um 3 Uhr hat der Hund sich so weit erholt, dass keine Krampfanfälle mehr zu beobachten sind, um 6 Uhr soweit, dass er schon auf dem Bauche liegend etwas kriechen kann. Dabei immer noch beständiges Zittern im ganzen Organismus als ob er von schnell aufeinanderfolgenden Frostschauern befallen wäre. Um 7 Uhr grosse Schwäche, aber nur periodisches starkes Zittern zu bemerken. Temperatur 38,8°. Um 8 Uhr status quo ante. Um 9 Uhr kann er sich noch immer nicht auf die Beine stellen.

Am anderen Tage zeigt das Tier grosse Schwäche, bisweilen leises Frostzittern, keinen Appetit; liegt apathisch da. — Das Tier erholt sich langsam in den nächstfolgenden Tagen und ist nach einer Woche vollkommen munter.

Einen Monat nach der letzten Injektion wiegt der gutgenährte, muntere, ganz normale Hund 250,0 gr. weniger, als vor der ersten Injektion und erhält 0,3 gr. Cnm.-HCl = 76 milligr. pro Kilo Körpergewicht subkutan.

4 Min. post Injekt. sind die ersten wiederholt beschriebenen Angsterscheinungen, Hallucinationen etc. zu bemerken, die sich rapid zu enormer Intensität entwickeln. 12 Min. post Injektion tritt ein intensiver epileptoider Krampfanfell von 35 Sekunden Dauer ein. Der Hund bleibt nach dem Anfall auf der Seite liegen. Hochgradige Dyspnoe. 17 Minuten nach der Einspritzung erfolgt den Tod.

Die SEKTION wurde 1 1/2 Stunden nach dem Tode vorgenommen.

Schleimhaut der *Harnblase*, sehr schwach injiciert.

Leber, etwas hyperämisch.

Pankreas, nichts abnormes.

Dickdarm, keine Veränderungen.

Die Falte der *Iliocoecalklappe*, sehr schwach injiciert.

Dünndarm, Inhalt gelblicher Schleim. Plaques hier und da an den Rändern gerötet.

Magenschleimhaut im Fundus-Teil violett-grau, im Pylorus-Teil blass-rosa.

Milz, klein, welk, blass.

Nieren, Kapseln sehr dünn, leicht abziehbar. Oberfläche der Nieren dunkel violett-rot, graulich gefleckt. Auf dem Schnitt erweist sich die Rindenschicht sehr hyperämisch (dunkelrot), fein grau gestreift.

Lungen, kollabiert, hell grauviolett. Spitze eines rechten Lungenlappens in ganz geringer Ausdehnung von dunkelroter Farbe (infiltriert).

Herz, nichts abnormes.

Lymphdrüsen, nichts abnormes.

Bei Betrachtung der *Gross-Hirn* Oberfläche erweisen sich die Gefässe ziemlich stark gefüllt.

Auf der Oberfläche des *Rückenmarks* erweisen sich die Gefässe ebenfalls ziemlich stark injiciert.

Bei einer Besichtigung des Kadavers ca. 5 Stunden nach der Sektion erwies sich das in der Bauchhöhle angesammelte *Blut* als noch nicht geronnen.

Der Versuch zeigt, dass *die Zahl der Krampfanfälle eine ganz enorm grosse* werden kann. Zufolge der dabei stattfindenden fast unausgesetzten Muskelthätigkeit wird natürlich der Muskelstoffwechsel sehr gesteigert und sehr viel Wärme produziert, denn fast die Gesamtmenge der Körperwärme des Warmblüters stammt aus der bei Muskelaktionen frei werdenden Verbrennungswärme (Bildung von CO_2 und von H_2O aus Glykogen).

Nun hat aber E. HARNACK (35) die auffallende Thatsache konstatiert, dass gerade bei Krampfgiften sich die Temperatur unserer üblichen Versuchstiere erniedrigt. Es war daher von einigem Interesse, die Richtigkeit dieses Satzes auch für unser Gift zu prüfen. Und in der That fand sich *die Temperatur nicht nur nicht erhöht, sondern erniedrigt*. Es scheinen also Regulationsvorrichtungen vorhanden zu sein, welche bei toxischen Krämpfen das naturgemässe Ansteigen der Körpertemperatur verhindern.

Bei der *Sektion* finden sich keinerlei Besonderheiten; *der Tod erfolgt*

eben *nicht durch schwere anatomische Störungen, sondern durch nervöse Erschöpfung, oder durch Erstickung.*

Versuch mit intravenöser Applikation. — Ein *Kater* von 2470,0 gr. wird aufgebunden, links die V. jugular. blossgelegt, in welche ein Spritzkanüle eingeführt und befestigt wird. Nun wird das Tier von Zeit zu Zeit mit je 1,0 gr. einer 0,5 % wässrigen Cnm.-HCl-Lösung intravenös vergiftet. Die einzelnen Einspritzungen werden besonders zum Schluss sehr langsam vorgenommen.

Injektionen	Zeit	Bemerkungen.
1	5 h. 15′	
2	19′	
3	24′	
4	32′	
5	35′	
6	40′	
7	45′	
8	48′	
9	50′	Dyspnöe.
10	53′	Krampfartige Zuckungen.
11	6 h.	Starke Dyspnöe. Salivation.
12	10′	
	11′	Erster klonischer Krampfanfall.
13	20′	Beständige starke Dyspnöe. Kater reagiert auf die schwächste Berührung mit Geschrei.
14	30′	
	34′	Starker Krampfanfall.
15	40′	Macht kräftige Anstrengungen sich zu befreien.
	45′	Starker Krampfanfall.
	47′	Starker Krampfanfall.
16	50′	
	52′	Tonische Zuckungen zu bemerken.
17	7 h.	Hochgradige Dyspnöe.
	2′, 3′, 4′	Krampfanfall. Dyspnöe und reichliche Salivation.
	8′	Stark. erst klonischer, dann tonisch. Krampfanfall. Hochgradige Dyspnöe.
18	10′	
	12′, 15′, 18′	Starker klonischer uud tonischer Krampfanfall.
		Die hinteren Extremitäten werden losgebunden; in ihnen keine willkürliche Bewegung zu bemerken.
	19′	Lungenthätigkeit scheint ganz zu sistieren.
		Pupillen ad maximum erweitert.
	24′	Tod.

Die am anderen Tage ausgeführte Sektion ergiebt nichts Pathologisches.

Unser Gift macht also weder bei subkutaner, noch bei intravenöser Injektion grobe anatomische Veränderungen.

3. Zusammenstellung einiger Angaben über letale und maximale Dosen des Cinchonamin für Warmblüter und Frösche.

Marcacci (3) giebt an, dass 0,3 bis 0,35 gr. Cnm. (subkutan) einen Hund von 14 kgr. töten. Das entspricht einer Gabe von 21,5 bis 25 milligr. pro Kilo Körpergewicht. Laborde (1) und Arnaud (10) geben für Frösche als tödliche Dosis 5 bis 10 milligr. an.

Aus den von mir ausgeführten Versuchen ergiebt sich für *Hunde* in der Hinsicht folgendes :

für Hunde bei 4,8 milligr. Cnm.-HCl pro Kilo Körpergewicht subkutan nichts abnormes.
» » 14 » » » » » Körpergewicht subkut. stark. Hallucinat., kein Krampfanfall. 2 Stund. nach Injekt. wieder normal.
» » 19 » » » » » Körpergewicht subkut. 1 Krampfanfall. 14 Stunden nach Injekt. wieder normal.
» » 24 » » » » » Körpergew. subkut. 1 Krampfanfall. Nach 24 Stunden normal.
» » 48 » » » » » Körpergew. subkut. ca. 100 Krampfanfälle in ca. 5 Stunden Hund auf's äusserste ermattet, erholt sich erst in 1 Woche allmählich und ist nach 1 Monat wieder vollkommen normal, wiegt aber dann 250,0 gr. weniger, als vor der ersten Injekt.
» » 76 » » » » » Körpergew. subkut. Tod in 17 Min. bei 1 Krampfanfall.

Für *Katzen* werden die subkutanen Gaben pro Kilo wohl ganz dieselben sein. Ich erhielt z. B. bei einem Kater mit 14 milligr. pro Kilo Körpergewicht starke Erscheinungen etc., aber noch keinen Krampfanfall. Bei intravenöser Applikation von im ganzen 36 milligr. Cnm.-HCl pro Kilo (18 Mal 2 milligr. pro Kilo im Verlauf von 1 Stunde 55 Min.) starb eine Katze in 2 Stunden 9 Minuten.

Es dürfte demnach bei subkutaner Applikation : 48 milligr. Cnm.-HCl pro Kilo Hund oder Katze als äusserste Grenze des Ertragbaren aufzufassen sein. Bei einer nicht viel grösseren Dosis würde das Tier nach relativ längerer Zeit an Erschöpfung zu Grunde gehen, bei einer viel grösseren

Dosis binnen kurzer Zeit wohl den Erstickungstod sterben, wie z. B. bei 76 milligr. pro Kilo in 17 Minuten.

Für *Rana temporaria* habe ich folgende Durchschnittsziffern gefunden:

bei 266 milligr. Cnm.-HCl pro Kilo	Tier nach 8 Stunden munter.
» 312 » » » » »	In einem Falle pulsierte das freigelegte Herz nach 30 Min. nicht mehr, in anderen Fällen waren die Tiere nach 24 Stunden munter.
» 363 » » » » »	Herz steht nach 2 Stunden in Diastole.
» 386 » » » » »	Herz pulsiert freigelegt nach 35 Min. nicht mehr, reagiert aber noch auf manuellen Reiz.
» 576 » » » » »	(2 mal 288 milligr. im Verlauf von 44 Min.) Herz pulsiert noch nach 6 Stunden.
» 755 » » » » »	(3 mal 285 milligr. im Verlauf von 48 Min.) Herz steht nach 56 Min. in Diastole.

4. Verhalten des Blutdruckes.

Ein *Kater* von 3050 gr. wird aufgebunden, rechts die Carotis ext., links die Vena jugularis communis blossgelegt. In die Arterie wird eine Kanüle eingebunden, welche mit einen Quecksilbermanometer durch ein mit 1 1/2-fach kohlensaurem Natron gefüllte Glasröhre in Verbindung steht; in die Vene wird die Spritzkanüle eingeführt und befestigt. — Nun wird das Tier tracheotomiert und von Zeit zu Zeit mit je 1,0 gr. einer 0,5 % Cnm.-HCl.-Lösung intravenös vergiftet. Nach der Curarisation folgt künstliche Atmung.

Zeit	Puls pro Minute	Blutdruck	Bemerkungen
11 h. 13′	156	180	
14′	152	190	
16′	156	194	
18′	158	190	
21′		180	
36′	210		
37′			Curareinjection mit folgender dauernder künstlicher Respiration.
38′	144	156—170	
40′	196		1-te Cnm.-Injektion.
41′		130	
42′	192	180	2-te » »
43′	192	136—180	
44′	180	140	3-te » »
45′		180—200	4-te » »
46′	184	130—180	
47′	188	140—230	5-te » »
48′			6-te » »
49′	180	200	
54′	180	196	

Zeit	Puls pro Minute	Blutdruck	BEMERKUNGEN
11 h. 55'	200	196	7-te Cnm.-Injektion.
58'	187	144—216	8-te » »
12 h. 1'		130	9-te » »
2'	188	190	
3'		160	
4'	180	160	
5'	184	130	10-te » »
6'		136	Leichte Zuckungen.
7'	180	130	
8'		190	11-te Cnm.-Injektion.
8' 30"		90	
10'		170	
11'		190	
12'		180	Salivation.
13'	160	180	
14'	156	170	
15'		220—140	12-te Cnm.-Injektion (langsam).
16'	152	120	
17'	144	170	
18'		130	13-te Cnm.-Injektion (langsam).
19'		150	
20'	140	100	
21'		130	
22'		150	
23'	152	150	
24'		170	14-te Cnm.-Injekt. (langsam).
25'		110	
26'	132	90	
27'		130	
28'	136	140	
29'		160	
30'		170	15-te Cnm.-Injekt. (langsam).
31'	144	130	Starke Zuckungen an den Hinterbeinen.
32'		120	
33'		140	
34'		150	
35'	160	110—140	
36'	152	150	
39'			16-te Cnm.-Injekt. (langsam).
40'		90	
41'		80	
42'	148	80	
43'		90—110	
44'		110—120	Zuckungen, da die Curarewirkung nachlässt.

Zeit	Puls pro Minute	Blutdruck	Bemerkungen
12 h. 45'	148	100—120	
46'		170	Zuckungen lebhaft.
47'		180—190	
48'		180 geht herab	1/2 Spritze Curare-Lösung.
49'		130	Zuckungen vorüber.
50'		80	
51'	148	110—120	17-te Cnm.-Injekt.
52'		90	
53'		96	
54'	136	60	
55'		60	
56'		56	
57'		80	
58'		100	
59'	148	140—160	
			18-te Cnm.-Injekt. (langsam).
1 h.		100	
1'	104		
3'		60	
5'		50	
6'	120	66	
7'	164	88	
8'	164	178	19-te Cnm.-Injekt. (langsam).
10'		90	
12'		90	
14'	124	80	
16'	132	140	
19'	160	184	
20'		120	20-te Cnm.-Injekt. (langsam).
23'	128	80	
24'	144	70	
28'	160	196	

Nach der 20-ten Injektion wird das Tier durch Entbluten getötet.

Sektion. — *Magen* und *Darm* ganz normal; im *Dünndarm* viele lebende Würmer, Band- und Spulwürmer.

Harn blutig.

In der linken *Herzkammer* einige Blutaustritte unter dem Endokard. Im übrigen nichts abnormales.

Das *Blut* ist nach 15 Minuten nur halb geronnen und hat sich nach 6 Stunden gut abgesetzt, also ohne einen festen Blutkuchen zu bilden. Auflösung von Blutkörperchen hat nicht stattgefunden.

Der Versuch zeigt, dass *das Cinchonamin weder auf die Pulsfrequenz noch auf den Blutdruck eines kurarisierten Tieres einen erheblichen Einfluss hat*; vielmehr war der Blutdruck wenige Minuten nach der 29-ten Injektion (d. h. nach 33 milligr. pro Kilo Tier) wieder normal und der Puls ebenso. Es erscheint mir daher überflüssig die Einzelheiten jeder Injektion hier zum Abdruck zu bringen. Genug, unser Gift ist in den genannten Dosen für Warmblüter kein erhebliches Herzgift und kein erhebliches Blutdruckgift. Gleich nach den Injektionen geht der Puls etwas an Frequenz herunter und der Blutdruck sinkt etwas; aber beides schwindet rasch. Das Sinken der Pulsfrequenz stimmt zu den am Schluss dieser Arbeit dargelegten Versuchen am WILLIAMS'schen Apparate, wo der Puls bei genügender Giftdosis bis Null sinkt, um bei Durchspülung mit frischem Blute sofort wieder normal zu werden. Das Sinken des Blutdruckes dürfte auf vorübergehende Lähmung des vasomotorischen Centrums zu beziehen sein.

Kurarisiert wurde das Tier bei vorliegendem Versuche, weil vorauszusehen war, dass die heftigen Krämpfe ein Ablesen des Quecksilberstandes unmöglich machen würden. Dazu war natürlich vorherige Tracheotomie nötig.

Eine Zerstörung roter Blutkörperchen bewirkt unser Gift nicht, denn das Blut des obigen Katers liess fast farbloses Serum zur Abscheidung bringen.

5. Versuche an ganzen Fröschen.

Versuch I. — Rana temporaria im Gewicht von 35,0 gr. erhält 0,01 Cnm.-HCl in Form einer 1 % wässrigen Cnm. HCl-Lösung in den Rückenlymphsack. Es sind, ausser einiger Unruhe, keine typischen Vergiftungserscheinungen zu bemerken. Tier wird allmählich ruhiger. 45 Min. post Injekt. steht das freigelegte Herz in Diastole.

Versuch II. — Rana temporaria von 32,0 gr. erhält wie oben 0,01 Cnm.-HCl subkutan. Verträgt nach 3 Stunden Rückenlage. Reagiert nach 6 Stunden auf energische Insulten mit schwachen Zuckungen der hinteren Extremitäten. Frosch nach 24 Stunden ganz munter.

Versuch III. — Noch 2 Ranae temp. von 33,0 und 35,0 gr. bekommen dieselbe Bose Cnm.-HCl in derselben Art und Weise wie bei den vorhergehenden Versuchen injiziert. Beide vertragen zu keiner Zeit gut Rückenlage. Nach 24 Stunden beide munter.

Versuch IV. — Rana temporaria von 33,0 gr. bekommt 0,012 Cnm.-HCl in den Rückenlymphsack injiziert. Nach 2 Stunden steht das freigelegte Herz in Diastole. Beine nie steif. Auf schwachen elektrischen Reiz : reflektorische Bewegungen.

Versuch V. — Rana temporaria von 30,0 gr. erhält 0,008 Cnm.-HCl in den Rückenlymphsack injiziert. Verträgt nicht gut Rückenlage. Ist einige Zeit still. Nach 8 Stunden ist der Frosch ganz munter.

Versuch VI. — Rana temporaria von 31,0 gr. erhält 0,012 Cnm.-HCl in den Rückenlymphsack injiziert. Nach 25 Min. gute Rückenlage. Nach 35 Min. pulsiert das frei-

gelegte Herz nicht mehr, obgleich das Tier auf direkten manuellen Reiz noch mit Zuckungen der hinteren Extremitäten reagiert. Auch das Herz zeigt nach stärkerem manuellem Reiz kurze Zeit schwache Pulsbewegung.

Versuch VII. — Rana temporaria von 35,0 gr. wird aufgebunden. Das Herz wird durch einen Fensterschnitt freigelegt. Vor der Vergiftung Pulsfreguenz im Durchschnitt 48 pro Minute.

Zeit	Puls pro Minute	BEMERKUNGEN
12 h. 20′	48	Subkutaninjektion von 0,01 Cnm.-HCl in den rechten Hinterschenkel.
22′	48	
24′	42	
26′	38	
27′	36	
30′	34	
31′	30	Macht energische Befreiungsversuche.
32′	28	
34′	27	
35′	25	
36′	24	
37′	24	
40′	24	
44′	24	
46′	23	
47′	23	Das rechte Hinterbein wird losgebunden; es ist volkommen steif, das linke dagegen nicht.
50′	21	
51′	22	
52′	19	
53′	20	
55′	22	
57′	19	
58′	21	
1 h.	20	
2′	20	
4′		Subkutaninjektion von 0,01 Cnm.-HCl in den linken Hinterschenkel.
5′	20	
7′	21	
8′	18	
9′	17	
11′	17	
13′	15	
15′	16	
17′	16	
18′	17	
19′	17	
21′	16	
24′	16	Das linke Hinterbein wird losgebunden; es ist volkommen steif.

Zeit	Puls pro Minute	BEMERKUNGEN
1 h. 25'	16	Auf mittelstarken elektrischen Reiz der Hinterbeine ist nur schwaches
30'	17	Zucken in den Zehenspitzen zu bemerken. Wird mit Wasser
5 h. 55'	16	abgespült.
6 h. 10'	14	
15'	15	
20'	14	Der Versuch wird abgebrochen. Herz pulsiert noch weiter.

Versuch VIII. — Rana temporaria von 35,0 gr. wird aufgebunden. Das Herz wird freigelegt.

Zeit	Puls pro Minute	BEMERKUNGEN
11 h. 14'	44	
16'	46	
18'	45	
19'	45	
20'	46	
21'		Subkutaninjektion von 0,01 Cnm.-HCl in den linken Hinterschenkel.
23'	44	
25'	47	
27'	45	
29'	35	
30'	28	
31'	27	
43'	28	
45'	30	
46'	32	
47'		Subkutaninjektion von 0,01 Cnm.-HCl in den linken Hinterschenkel.
53'	16	
54'	14	
56'	14	
57'	15	Die Beine werden losgebunden — linkes Bein steif, rechtes nicht.
12 h.	16	
2'		Subkutaninjektion von 0,01 Cnm.-HCl in den Rückenlymphsack.
4'	11	
5'	7	
6'		Herz steht in Diastole.
10'		Auf elektrischen Reiz des Ischiadisus Muskelzuckungen.

Die Versuche an ganzen Fröschen ergeben als *tödliche Dosis 300 bis 350 Mg. pro Kilo Tier.* Die Empfindlichkeit der Tiere scheint eine verschiedenartige zu sein, indem die einen bei Dosen noch normal bleiben, die den anderen den Tod brachte. Die Symptome zeigen zunächst *als sehr bemerkenswerten Unterschied den Warmblütern gegenüber das Fehlen der Krämpfe.* Wäre das Cnm. ein reizendes Rückenmarksgift, so müsste beim Frosch

dasselbe Krampfbild wie beim Warmblüter eintreten, denn es giebt bis jetzt kein Rückenmarkskrampfgift, welches auf den Frosch nicht wirkte; er ist im Gegenteil äusserst empfindlich für dieselben. Da nun bei unserem Gift keine Krämpfe bei Fröschen auftreten, ist es äusserst wahrscheinlich, dass unser Gift die Krämpfe von der Hirnrinde aus erzeugt, denn derartige Gifte wirken sehr häufig auf den Frosch nicht krampfmachend, weil sein unentwickeltes Gehirn die Hirnrindenkrampfzentren der Säugetiere noch gar nicht besitzt. Für diese Ansicht spricht auch die grosse Aehnlichkeit der von mir beobachteten Warmblüterkrämpfe mit echter Rindenepilepsie des Menschen.

Wir sehen am Frosch beim Cnm. nur die Wirkungen eines schwachen Protoplasmagiftes, d. h. einer Substanz, welche 1) das Gehirn lähmt, 2) das Herz zu langsamerem Schlagen und schliesslich zum Stillstand bringt, 3) ins Bein injiziert dieses steif macht, indem es die Muskulatur langsam abtötet.

Die nachstehenden Versuche an Froschbeinen nnd am Williams sollen in Bezug auf Muskeln und Herz darüber noch weiteren Aufschluss geben.

6. Versuche mit Froschbeinen.

Legt man in 2 Gefässe mit physiol. Kochsalzlösung je einen Muskel oder eine Muskelgruppe eines eben getöteten Frosches und setzt zu dem einen Gefäss Cinchonamin in solcher Menge, dass es 0,5 % der Flüssigkeit ausmacht, so ist nach 3 Stunden die Erregbarkeit dieses Muskels fast erloschen, während die des unvergifteten noch nach 24 Stunden unverändert ist. Zuckungen der Muskeln treten vor der Lähmung nicht ein. Damit ist bewiesen, dass das *Cinchonamin für isolierte Muskulatur in der That ein Protoplasmagift ist,* aber ein nur schwaches.

7. Durchströmungsversuch am ausgeschnittenen Froschherzen mit dem Williams'schen Apparat.

Ein Froschherz wird in der von Williams (36) angegebenen Weise präpariert und an den von Maki (37) modifizierten Williams'schen Apparat, dessen Membranventile durch Glaskugelventile nach Perles (38) ersetzt sind, angebunden. Die Höhe der auf dem Herzen lastenden Blutsäule wird so eingestellt, dass sie die möglichst günstigste für die Herzarbeit ist. Der Apparat enthält ein Gemisch von frisch defibriniertem Kaninchenblut und physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 2 : 3.

Zeit	Pulsfrequenz pro Minute	Menge des gelieferten Blutes in c.c.	BEMERKUNGEN
10 h. 27′	35	5,0	Normales Blutgemisch 50 c.c. (30 Blut + 20 Kochsalzlösung.
30′	35	5,0	
33′	40	4,5	
35′	42	4	
36′		4	
37′	43	4	
40′	42	4	
43′	45	4	
45′	44	3,5	
46′	46	4	
50′	42	3,5	
56′	46	3	
11 h. 2′	42	3,5	
7′	40	4	Das Blutgemisch wird mit einem c.c. einer 1 % Cnm.-HCl Lösung versetzt.
8′	4	0	
10′	0	0	Das Herz steht im ausgedehnten Zustande fast völlig still. Sein Volumen ist viel grösser als es früher war.
15′	0	0	Das Herz steht zwar völlig still, macht aber auf mechanischen Reiz eine Kontraktion.
16′			Das Giftblut wird durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt.
17′			Die Kochsalzlösung wird durch Gummi arabic.-Blutlösung ersetzt.
20′	27	3,5	
45′		8	
51′	28	8	
56′	28	6	
12 h.	38	5	
2′	38	5	
4′	33	5,5	
8′			Es wird das Gummi arab.-Blut durch das Giftblut des obigen Versuches ersetzt.
9′	24	3,1	
10′	10	2	
12′	7	1,3	
15′	7	1,3	
20′	7		
21′	5	0,5	
25′	5	0,5	
28′	5	0,5	
30′			Das Giftblut wird abgelassen.
34′			Das Giftblut wird durch physiolog. Kochsalzlösung ersetzt.

Zeit	Pulsfrequenz pro Minute	Menge des gelieferten Blutes in c.c.	BEMERKUNGEN
12 h. 35'			Die Kochsalzlösung wird durch Gummi arabic.-Blut ersetzt.
37'	23	7	
38'	26	7,5	Ab und zu erweitert sich das Herz, ob noch von der Giftwirkung, oder durch Verstopfung veranlasst, lässt sich nicht nachweisen.
42'	32	7	
44'	33	6,5	
57'	42	6,2	
1 h. 11'	41	5,5	
16'	35	6,0	

Die Beobachtung des Versuches wird abgebrochen. — Nach 4 Stunden arbeitet das Herz noch ganz normal.

Dieser Versuch zeigt, dass auch auf's isolierte Herz *die Wirkung des Cinchonamins die eines schwachen Protoplasmagiftes ist, welches die leicht lähmbaren muskulo-nervösen Apparate fast momentan ausser Aktion stellt.* Sobald man das Giftblut entfernt, tritt das Schlagen wieder ein.

Zum Schluss möchte ich alle überhaupt gemachten Beobachtungen in den Satz zusammenfassen : das Cinchonamin ist für Kaltblüter ein schwaches Protoplasmagift, welches ohne vorhergegangene Reizung Nerven und Muskeln lähmt. An Warmblütern kommt eine für diese spezifische Wirkung hinzu, welche in Reizung der Hirnrinde besteht. Das dem Cinchonamin verwandte Chinin wirkt auf Warm und Kaltblüter nur als lähmendes Protoplasmagift. Bei der Cinchonaminvergiftung würden Diuretika und die Organismuswaschung das Gift mit Sicherheit rasch aus dem Körper entfernen. Gegen die epileptoiden Anfälle dürfte Chloralhydrat das souveränste Gegenmittel sein. Was die arzneiliche Benutzung anlangt, so glaube ich hier noch besonders hervorheben zu müssen, dass für die therapeutische Verwendung des Cinchonamin sich aus meinen Versuchen kein Anhaltspunkt(1) ergiebt.

Obwohl diese Arbeit vor sieben Jahren schon, und zwar in Dorpat, angefertigt ist, glaube ich doch, dass sie auch heute noch einiges Interesse beansprochen kann, da ja die Frage nach der Behandlung der Malaria jetzt wieder auf der Tagesordnung ist.

Herrn Prof. KOBERT möchte ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank sagen.

(1) BRÜHL, HJELT u. ASCHAN in ihrem Werke über die Pflanzenalkaloide (Braunschweig, 1900, p. 238) sagen : « das Cinchonamin ist giftig und *wirkt stärker fiebervertreibend als das Chinin.* » Ich möchte empfehlen diesen Satz recht skeptisch aufzunehmen.
KOBERT.

Litteratur.

1. Laborde : Comptes rendus des séances de la Société de Biologie (7e série), t. IV, 1882, p. 769 et 760.
2. Sée et Bochefontaine : Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences, t. C, 1885, 9 février et 2 mars.
3. Marcacci : Medicina contemporanea (Neapel), 1887.
4. Triana : Pharmaceutical Journ. and Transact., 1882, 3. XII, p. 861, und Journal de Pharmacie et de Chimie, V, 1882, p. 354 et VI, 1883, p. 89.
5. Hesse : *Ueber die Rinde von Remijia Purdieana Wedd. und ihre Alkaloide.* Liebig's Annalen der Chemie, Bd. 225, 1884, p. 211.
6. Flückiger : *Die Chinarinden.* Berlin, 1883, 79 S. und Vorwerk's neues Jahrbuch für Pharmacie, XXXVI (Speier, 1871), p. 296.
7. Arnaud : Comptes rendus de l'Académie des Sciences, t. XCIII, 1881, p. 593; t. XCV, 1883, p. 174; Journ. de Pharm. et de Chim., 1881, IV, p. 578; Jahresber. d. Pharmacie, 1882, p. 678; 1884, p. 455, 747, 749.
8. Hesse : Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. Jg. 16, 1883, p. 62.
9. Arnaud und Padé : Referat in Jahresber. über d. Fortschritte d. Pharmotherap. für 1884 von Dr Kobert (Strassb., 1885), p. 349.
10. Arnaud : Referat im Jahresber. der Pharmacie, 1892, p. 420.
11. Planchon : Journal de Pharmacie et Chimie (5e série), t. V, 1882, p. 352 et 384.
12. Grahe : Chemisches Centralblatt, Jg. 1858, p. 97.
13. Triana : Journal de Pharmac. et de Chim. (5e série), t. V, 1882, p. 565.
14. Arnaud : Pharm. J. Trans. (3), 12, 626.
15. Arnaud : Pharm. J. Trans. (3), 12, 925.
16. Arnaud : *Recherches sur la Cinchonam. nouv. Alcaloide. d. Quinquinas.* Annales de Chim. et de Phys. par Berthelot, Pasteur, etc. Paris, 1890, (6e série), t. XIX, p. 93.
17. Arnaud : Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, t. XCVII, 1883, p. 194.
18. Beilstein : Organische Chemie, Hamburg und Leipzig, 1890, Bd. III, p. 583.
19. Schmidt, E. : Pharmaceut. Chem., 1890, Bd. II, p. 1272.
20. Parfenow, Ilja : *Chemisch-pharmakogn. Unters. der braunen amerikan. Chinarinden.* Dissert. Dorpat, 1885, 99 pp.
21. Godefroy : Zeitschrift des Oester. Apothekerver., 1878, No 1.
22. Weddell : Annales des Sciences nat. Botanique, XI, 1849, p. 272.

23. Warnecke : Lehrbuch der Botanik. Braunschweig, 1892.
24. Behrens : Hilfsbuch z. Ausf. mikroskop. Unters., Braunschw., 1883.
25. Zimmermann : Die botanische Mikrotechnik. Tübingen, 1892.
26. Poulsen : Botan. Mikrochemie. Uebersetzt von C. Müller. Cassel, 1881.
27. Arnaud : Bulletin de la Société chimique, t. 41, p. 590.
28. Arnaud et Padé : *Recherches chimiques de l'acide nitrique, des nitrates dans les tissus végétaux.* Comptes rendus de l'Académie des Sciences, t. XCVIII, 1884, p. 1488.
29. Friedel : Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, 21 novembre 1887.
30. Dragendorff : *Die gerichtlich-chem. Ermittelung von Giften.* Göttingen, 1895.
31. Ellram : Sitzungsbericht der Dorpater Naturfor.-Gesellsch., Bd. XI, 1895, p. 17.
32. Kobert : Lehrbuch der Intoxikationen. Stuttgart, 1893, p. 213.
33. Leineweber : *Ueber Eliminati n subkutan applic. Arzneimittel durch die Magenschleimhaut.* Dissert. Göttingen, 1883.
34. Abt und Baumert : citiert in Arbeiten des pharmakolog. Institut zu Dorpat, herausg. von Prof. Dr R. Kobert, XI XII, p. 240.
35. Harnack, E. und Hochheim, W. : Zeitschr. für klin. Med. Bd. 28, 1894, p. 14.
36. Williams : Archiv der exp. Path. a. Pharm., Bd. 13, 1881, p. 1.
37. Maki : *Ueber den Einfluss des Kamphers, Coffeins und Alkohols auf das Herz.* Dissert. Strassburg, 1884.
38. Perles : Archiv der exp. Path. u. Pharm. Bd. 26, 1889, p. 95.
39. Marquis, E. : *Einiges über den Verbleib des Morphins im tierischen Organismus.* Dissert. Jurjew, 1896, verbessert abgedruckt in Arbeiten des pharm. Inst. zu Dorpat, XIV, 1896, p. 118.
40. Flückiger : Pharmakognosie des Pflanzenreichs. Berlin, 1891, p. 556.

Aus dem Institute für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock (Director Prof. R. Kobert).

Zur Pharmakologie des Kobalts mit besonderer Berücksichtigung seiner Verwendung bei Blausäurevergiftung

VON

Dr J. HÜBNER.

1. Übersicht über die verschiedenen Behandlungsweisen der Blausäurevergiftung.

Bei der Behandlung der Blausäurevergiftung sind verschiedene Wege eingeschlagen worden. Der älteste ist jedenfalls eine mechanisch-symptomatische Behandlung unserer Intoxikation. Der Arzt, welcher sie anwendet, entfernt die Blausäure oder deren Salze aus dem Magen des Vergifteten durch Brechmittel, durch Heber oder Magenpumpe mit nachfolgender Auswaschung des Magens, falls das Gift vor nicht allzu langer Zeit in denselben eingeführt worden ist. (Als Auswaschungsmittel wird in neuerer Zeit unter Kombination der mechanisch-symptomatischen Behandlung mit der chemischen, gern und mit Vorteil eine 0,5 prozentige Kaliumpermanganat-, eine 0,5 prozentige Kobaltoxydulnitrat-, oder eine 0,5—3 %ige Wasserstoffsuperoxydlösung verwendet. Das Ausführlichere darüber folgt weiter unten). Der Arzt begegnet der stockenden Atmung durch künstliche Respiration nach einer der drei bekannten Methoden, oder durch elektrische Reizung des Nervus phrenicus. Die schwindenden Reflexe werden wieder belebt durch Bürsten und Frottieren der Haut, durch Reizung der Fusssohlen mit dem elektrischen Pinsel, durch kalte Uebergiessung des Kopfes und Rückgrates im warmen Bade. Die

gesunkene Cirkulation erfährt Anregung, durch passive Bewegung der Glieder, durch Streichen in der Richtung der Venen, durch Massage des Herzens und durch subkutane Kampferinjektion. Um die Menge des im Blute cirkulierenden Giftes zu vermindern, macht der Arzt einen Aderlass mit nachfolgender Transfusion von Menschenblut oder Infusion von physiologischer Kochsalzlösung. Alle diese Bemühungen werden jedoch meist vergeblich sein, wenn es sich um einen schwereren Fall handelt, das heisst, wenn schon die etwa tötliche Menge Blausäure vor Eintritt der Behandlung resorbiert worden ist. In anderen leichteren Fällen sollen diese Manipulationen in der That manchmal Erfolg gehabt haben.

Eine auf chemischen Ueberlegungen beruhende Behandlungsweise hat Kóssa (26 u. 29) vorgeschlagen. Er ging von der Ansicht aus, dass das für den Körper kaum schädliche Kalium permanganicum die Blausäure und deren Salze zu Cyansäure und deren Verbindungen oxydiert. Cyansaure Salze sind aber fast ungiftig. Er hat deshalb geraten, dem Vergifteten schleunigst 3—500 c.c. einer 0,5 %igen Lösung von $KMnO_4$ zu reichen. Nun ist zwar von Kóssa und anderen gezeigt worden, dass es im Reagensglase in der That leicht gelingt, die Blausäure bezw. deren Salze durch übermangansaures Kali in Cyansäure resp. cyansaures Kali überzuführen. $KMnO_4$ kommt bei seiner Unbeständigkeit jedoch wohl niemals vom Magen aus unverändert in das Blut. Das Antidot hat daher, falls die Blausäure eingeatmet, subkutan eingespritzt oder aus dem Magen bereits resorbiert worden ist, gar keinen Sinn. Es ist somit überhaupt nicht als echtes HCN-Antidot anzusehen, weil es nur für das im Magen enthaltene, aber nicht für das ins Blut übergegangene Gift, wie Kóssa glaubte, wirksam ist.

Im Anschluss an das übermangansaure Kali möchte ich die von Loyssel (31) bei allen Blutgiften empfohlenen Inhalationen von inaktivem Sauerstoff erwähnen, obwohl es sich bei denselben um keine Oxydation der Blausäure, sondern lediglich darum handelt, das Serum des Blutes und die nicht vergifteten Blutkörperchen mit Sauerstoff zu sättigen und das Gehirn dadurch funktionsfähig zu erhalten. Gleichzeitig soll die Cyanwasserstoffsäure durch Massenwirkung ausgetrieben werden.

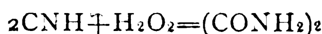
Ein vierter Weg ist unserer Therapie von Lang (22) unter der Ägide F. Hofmeister's gezeigt worden. Die Blausäure wird nach ihm durch den Organismus in Rhodanwasserstoff verwandelt. Den hierzu nötigen Schwefel liefert das Eiweiss des Körpers. Der locker gebundene Schwefel des Körpers ist das natürliche Antidot der Blausäure. Lang hat es versucht, den physiologischen Entgiftungsvorgang im Organismus nachzuahmen

und zu unterstützen. Da das Eiweiss seinen « Sulfid-Schwefel » nur langsam abgiebt, führte er andere chemische Verbindungen zu, welche vermutlich in der Zeiteinheit mehr Sulfid-Schwefel abspalten würden. Lang untersuchte folgende Körper : 1. Schwefelnatrium, 2. Natriumthiosulfat, 3. Methylmerkaptan, 4. Methylsulfid, 5. xanthogensaures Natrium. 6. thiacetsaures Natrium, 7. carbaminthioglykolsaures Natrium, 8. Cysteïn, 9. Cystin und 10. den Schwefelkörper des Spargels. Nach Lang verdient Natriumhyposulfit die Krone. Es wirkt besser als $KMnO_4$, $Co(NO_3)_2$ und H_2O_2. Diese Ansicht Lang's ist inzwischen von Walkow (9) modifiziert worden. W. fand, dass es gelingt, wenn auch in einem nicht hohen Grade, die oxydative Wirkung des Thiosulfates auf Blausäure zu steigern durch : 1. Terpentinöl, 2. chlorsaures Natrium, 3. Kaliumperchlorat, 4. Ferricyankalium, 5. Kaliumpersulfat, 6. besonders jodsaure Salze.

Trotzdem kommt Walkow am Schlusse zu einer abfälligen Kritik des Problems der Entgiftung durch Oxydation. Er hält sie der Blausäure gegenüber für wenig wirkungsvoll, für höchstens prophylaktisch gegenüber der einfachen tötlichen Dosis. Ganz im Sinne Walkow's sind die Untersuchungsresultate von Heymans und Masoin (11). Diese Autoren beweisen, dass die von Lang angegebene antitoxische Wirkung nur scheinbar eine kurative ist. « Das Hyposulfit hindert den Eintritt der Vergiftung, hat aber auf die eingetretene Vergiftung keinen Einfluss. Wie in vitro verwandelt das Hyposulfit das freie KCN in KCNS, aber nicht das gebundene, das vergiftende KCN. »

Ein fünfter Weg ist die Umwandlung des Cyanwasserstoffs in Haloidverbindungen. Prof. Kobert und sein Schüler Goldfarb haben ihn zuerst betreten. Die Giftigkeit der Blausäure wird dabei gemindert, aber nicht aufgehoben. Nach Kobert ist es gleichgültig, ob man freies Brom oder freies Jod zur Entgiftung benutzt. Nach Falck ergiebt sich aus einem Vergleiche des fertigen Bromcyan mit dem fertigen Jodcyan das erstere als ungiftiger. Zwecks Entgiftung wird dem Menschen Jod-Jodnatrium oder Brom-Bromnatriumlösung subkutan eingespritzt. Die Methode hat ohne Frage eine theoretische Berechtigung, lässt aber bei grossen Dosen Blausäure im Stich und ist deshalb zu Gunsten einer sechsten, welche die Blausäure in Oxamid verwandelt, und zwar gleichgültig, ob sie sich im Magen oder im Blute befindet, von Kobert und anderen angegeben worden.

Den Chemikern war die Gleichung



$$2CNH + H_2O_2 = (CONH_2)_2$$

schon lange bekannt. Es ist ein Verdienst von Prof. KOBERT, sie auf ihre toxikologisch-praktische Bedeutung zuerst geprüft zu haben. Er veranlasste KROHL (31 u. 6) zu einer Reihe von Versuchen, um den Wert und die Brauchbarkeit des Wasserstoffsuperoxyds als Blausäureantidot zu prüfen. Nach KROHL ist man imstande, mit Hülfe von H_2O_2 Katzen, Hunde und Kaninchen, welche per os oder subkutan die eben tödliche, oder eine die tödliche sogar etwas übersteigende Dosis von HCN erhalten haben, zu retten. *Dass die Umsetzung der CNK und der H_2O_2 fast quantitativ vor sich gehe, haben sich* KOBERT *und* KROHL *natürlich nicht vorgestellt. Es genügt ja aber auch völlig, wenn die CNH im Körper auf ein nicht mehr toxisches Quantum herabgesetzt wird.* Deshalb ist unter KOBERT's Beihülfe von MERCK in Darmstadt ein Entgiftungsapparat konstruiert worden, der sich für Vergolder-Werkstätten, chemische Laboratorien, photographische Ateliers, sowie Berg- und Hüttenwerke, welche sich mit HCN oder mit KCN vielfach zu befassen haben, vielleicht eignet. Zur Beurteilung des Wertes dieser Methode führe ich die Thatsache an, dass in englischen Berg- und Hüttenwerken, wo viel mit Cyankalium gearbeitet wird, die KOBERT'sche Behandlungsweise schon seit Jahren erfolgreich Eingang gefunden hat, und dass sie jetzt auch in den süd-afrikanischen Goldminen zur Verwendung kommt. Wer sich für Näheres interessiert, sei auf MERCK's Jahresbericht von 1899 verwiesen.

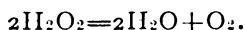
Den PREYER'schen Vorschlag, mit Blausäure Vergifteten Atropin zu geben, weil an Tieren anfangs starke Vagusreizung nachweisbar ist, will ich wenigstens nicht unerwähnt gelassen haben, obwohl Atropin bisher nur wenig oder nichts beim Menschen genutzt hat.

Wir kommen somit zu der letzten und modernsten Behandlungsweise der Blausäurevergiftung, welche von ANTAL (19) im Jahre 1895 angegeben worden ist. Bestätigende Versuche, welche MEURICE (36 und 37) gemacht hat, sind mir leider rechtzeitig nur durch Tagesblättern bekannt geworden. A. u. M. glauben im Kobaltoxydulnitrat ein geeignetes Gegengift gefunden zu haben, welches wie H_2O_2 auch im Blute befindliche HCN angreift. Die Giftigkeit hängt nach A. ausschliesslich von der Konzentration der Lösung ab. 100 c.c. einer 1 %igen Kobaltlösung sind nach diesem Autor für ein Kaninchen « ohne jede schädliche Wirkung », während 20 c.c. einer Lösung von 5 % innerhalb sieben Stunden den Tod herbeiführen. ANTAL schlägt vor, bei HCN-Vergiftung 20—30 c.c. einer 0,5 %igen Lösung von $Co(NO_3)_2$, unter die Haut zu spritzen und « einige Gläser » von derselben Lösung innerlich zu geben. Er stellt sich offenbar vor, dass Blausäure und Kobaltoxydulnitrat auch im Blut, den Geweben

und im Magen wie im Reagensglase aufeinander wirken. Bringt man Lösungen beider Salze im Reagensglase zusammen, so entsteht, je nachdem das Kobaltoxydulnitrat oder die Cyanwasserstoffsäure im Überschuss vorhanden ist, Kobaltocyanid respektive Kobaltocyankalium. Das Kobaltcyankalium (K_4CoCy_6) ist eine sehr unbeständige Verbindung, welche schnell in Kobalticyankalium (K_3CoCy_6) übergeht. Alle drei Salze sind nach ANTAL's Ansicht ungiftig. Welchen Eindruck ich selbst von der Ungiftigkeit des Kobalticyankalium bekommen habe, soll später auseinandergesetzt werden.

Im vorhergehenden wurden die wichtigsten Behandlungsweisen der Blausäurevergiftung erwähnt. Untergeordnete und abenteuerliche Vorschläge kühner Theoretiker z. B. die Bildung von Berlinerblau im Körper aus HCN und desgleichen von Dextrosecyanhydrin aus Traubenzucker und Blausäure, haben als praktisch bedeutungslos keine Berücksichtigung gefunden. Bei der schnellen Wirkung der Blausäure und der teils nur prophylaktischen, teils echten aber infolge der langsamen Resorption (wenigstens im Verhältnis zur HCN) nur geringen antidotarischen Aktion ihrer Gegenmittel erscheint die hohe etwa 95 % betragende Mortalität der Blausäurevergiftung durchaus nicht befremdend. Hier ist ein weites Feld, wo Theoretiker und Praktiker um die Wette arbeiten können, die Mortalitätsziffer im neuen Jahrhundert von 95 % auf 5 % herabzusetzen!

Die besten Methoden scheinen auf den ersten Blick die KOBERT'sche und die ANTAL'sche Behandlungsweise zu sein. Ideal ist indes keine von beiden zu nennen. Wasserstoffsuperoxyd zersetzt sich im Kontakt mit Blut und lebenden Geweben, sofern nicht Ueberschuss von Blausäure vorhanden ist, nach der Formel:



$$2H_2O_2 = 2H_2O + O_2.$$

Es entsteht also Wasser und inaktiver Sauerstoff. Letzterer entwickelt sich bei ungeschicktem, zu reichlichem Einspritzen vielleicht manchmal in solchen Mengen, dass nach Umwandlung der Blausäure in Oxamid und nach Sättigung des Hämoglobins der roten Blutkörperchen mit O_2 Gasblasen im Blute auftreten, die zu Luftembolie und schweren mechanischen Cirkulationsstörungen, ja selbst zum Tode Veranlassung geben können. Ferner ist das gebildete Oxamid, wie KOBERT selbst nachgewiesen hat, keineswegs ungiftig. Einzelne andere Autoren nennen letzteres sogar ein furchtbares Gift; andere umgekehrt meinen, in kleinen Dosen sei es gänzlich unwirksam. Die Wahrheit liegt vielleicht in der Mitte. KOBERT selbst hält wie gesagt das Oxamid zwar nicht für ungiftig, meint aber, in unserem Falle könne es höchstens geringe Konkrementbildung in den

Harnwegen bewirken, die durch reichliche Getränkezufuhr leicht zu beseitigen sei. Wie gross diese Konkrementbildungen bei *dauernder* Zufuhr von Oxamid werden können, dafür hat EBSTEIN in einer besonderen Monographie sehr schöne Belege geliefert. Doch geht uns hier die Ablagerung von verfüttertem fertigem Oxamid nichts an, sondern nur die Entstehung dieses interessanten Konkrementbildners im Organismus bei der Blausäureentgiftung nach KOBERT. Es ist, das sei nochmals betont, das KOBERT'sche Blausäure-Antidot subkutan mit Vorsicht zu gebrauchen. Nachdem Nachstehendes schon als Dissertation gedruckt war, erschien eine Mitteilung von MARTIN und O'BRIEN (34), welche die Brauchbarkeit der Wasserstoffsuperoxydbehandlung bestreitet. Da jedoch in dieser Mitteilung nichts darüber gesagt ist, ob das zur Verwendung gekommene das gewöhnliche unreine (saure) Handelspräparat war, halte ich die Versuche von KOBERT und KROHL für noch nicht widerlegt und verweise auf weitere Versuche unseres Institutes, welche die Frage von Neuem prüfen werden. Für den Inhalt meiner Arbeit ist es übrigens ohne Belang, ob das Wasserstoffsuperoxyd auf Blausäure entgiftend wirkt oder nicht, da ich mich nur mit den Licht- und Schattenseiten des ANTAL'schen Kobaltsalzes als Antidot bei HCN-Intoxikation befasst habe.

2. Erkennung der Kobaltverbindungen.

Um medizinischen Lesern verständlich zu sein, muss ich einige rein chemische Angaben hier einfügen. Als Identitätsreaktionen für Kobaltlösungen werden in chemischen Lehrbüchern angegeben : 1. Sie färben die Borax- oder Phosphorsalzperle schön blau. 2. Ammoniumsulfid fällt schwarzes, in verdünnter Salzsäure unlösliches Kobaltosulfid. 3. Kaliumnitrit fällt aus den mit Essigsäure versetzten Lösungen gelbes Kaliumkobaltinitrit. 4. Kalilauge fällt blaue basische Kobaltsalze, löslich im Überschuss des Ammoniaks mit brauner Farbe, welche an der Luft allmählich rot wird. 6. Rhodankalium mit darauffolgendem Zusatz von Alkohol färbt blau. 7. Concentrierte Salzsäure und andere Wasser entziehende Säuren färben ebenfalls blau. 8. Wird bei N° 5 Weinsäure hinzugesetzt, so färbt Ferricyankalium diese Lösung schön rot. 9. Gelbes Blutlaugensalz giebt einen blauen Niederschlag.

Ich habe mit wenigen Ausnahmen die Boraxperle zum Nachweis benutzt. Die Empfindlichkeit derselben steht der Nitritprobe sicher nicht nach. 0,000006 gr. Kobalt in einem Tropfen Wasser färbten die Perle noch deutlich blau. Die Organe können direkt auf der Boraxperle verascht werden. Das Eisen des Blutes störte nur dann, wenn sehr viel Blut mit

sehr geringem Kobaltgehalt auf die Perle gebracht wurde. Bei gleichem Eisen- und Kobaltreichtum in der Perle ist das erstere Metall fast ohne jeden Einfluss auf die durch letzteres bewirkte blaue Farbe. Aus dem dunkeln Kobaltharn ging unser Metall auf Zusatz von Säure, Rhodankali und Amylalkohol in den letzteren mit schön blauer Farbe über. Essigäther verhielt sich wie Amylalkohol. Betreffs der Trennung von Nickel und Kobalt, die uns hier aber kaum interessiert, verweise ich auf Rosenheim und Huldschinsky (35).

3. Verhalten der Pflanze gegen Metalle, speziell gegen Kobaltoxydulnitrat

Bereits 1855 konstatierte Forchhammer (32), dass Pflanzen neben den anderen im Boden vorkommenden Bestandteilen auch Metalle aufzunehmen vermögen. Seitdem hat man durch zahlreiche Aschenanalysen, welche bei den verschiedenartigsten Pflanzen gemacht wurden, eine grosse Menge von zum Teil recht seltenen Metallen gefunden. Viele dieser Metalle finden sich freilich nur vereinzelt und zufällig; andere dagegen begegnen dem Chemiker fast in jeder Asche. Nach Noll (17) traf man in Pflanzen folgende Metalle : 1. Aus der Gruppe der Alkalimetalle : Kalium, Natrium, Rubidium und Lithium. 2. Von den Erdalkalimetallen : Calcium, Baryum, Strontium. 3. Von der Magnesiumgruppe : Magnesium und Zink. 4. Aus der Kupfergruppe: Kupfer, Silber, Quecksilber. 5. Von der Aluminiumgruppe: Aluminium und Thallium. 6. Aus der Zinngruppe: Zinn und Titan. 7. Blei. 8. Chrom aus der Chromgruppe. 9. Sämtliche Metalle der Eisengruppe : Mangan, Eisen, Kobalt und Nickel. Da von diesen Metallen nur Kalium, Calcium, Magnesium und Eisen im allgemeinen allen grünen Pflanzen durchaus unentbehrlich sind, so muss man alle andern als mehr oder weniger zufällig anwesend bezeichnen. A priori lässt sich vermuten, dass die Gegenwart dieser Metallfremdlinge für die betreffende Pflanze teils schädlich, teils indifferent, teils nützlich sein wird. So ist es auch in der That. Einige Beispiele mögen das Gesagte illustrieren. Noll erzählt, bei den « sehr giftigen » Kupfersalzen habe man neuerdings die Erfahrung gemacht, dass sie, mit Blättern in Berührung gebracht (wie beim Bespritzen der Pflanzen mit Bordeauxbrühe gegen Schädlinge), deren Chlorophyllgehalt, Assimilation, Transpiration und Lebensdauer, günstig beeinflussen.

Tschirch (32) brachte auf eine etwa 2 qm. grosse Fläche, die mit 1/2 kgr. Weizen besät war, im ganzen 4 kgr. Kupfersulfat. 2 kgr. wurden mit dem Weizen zugleich ausgesät, und 2 kgr. kurz vor der Blüte dem

Boden zugefügt. Es wurde keinerlei schädliche Wirkung auf die Pflanzen beobachtet. Sie entwickelten sich normal, blühten und fruchteten normal. Wenn angegeben wird, grössere Mengen Kupfer üben einen giftigen Einfluss auf Pflanzen aus, stören die Ausbildung der Wurzeln, hemmen die Lebensthätigkeit der Pflanze oder töten sie gar, so mag das für Nährstofflösungen zutreffen, wo die Wurzeln in der Kupfersulfatlösung schweben, also noch Nebenwirkungen in Betracht kommen, für den Boden gilt es sicher nicht. Die Analyse der so gezogenen Pflanzen ergab für das Stroh 0,033 % CuO, für die Aehren 0,019 % CuO. Aus diesem Versuch ergiebt sich: Kupfer wird unzweifelhaft in den Weizen aufgenommen aber selbst bei starker Kupferung des Bodens in geringer Menge. Eine Intoxikation der Pflanze durch Kupfer ist kaum möglich, selbst bei stärkster Verunreinigung des Bodens mit Kupfersalzen.

Tschirch brachte ferner auf 2 qm. besäte Bodenfläche 1 kgr. Mennige konnte aber die Pflanzen in zwei Jahren nicht zur Blüte bringen. Sie blieben klein und schmächtig. Das Blei bewirkt mithin ausgesprochenen Zwergwuchs. Tschirch spricht direkt von einem Blei-Nanismus. Das Blei ist für Pflanzen entschieden giftig. Es wird in relativ grossen Mengen von der Pflanze aufgenommen; allerdings nicht in dem Grade wie Mangan. Der Thee enthält z. B. nach Maumené (31) bis 10 % der Asche an Mangan. Durch ihren Mangangehalt geradezu berühmt geworden ist die Weisstanne J. v. Schröder's. In der Asche dieses 90jährigen auf Braunstein gewachsenen Baumes fanden sich 33,18 % Mangan als Oxyduloxyd. Interessant ist es wie manche Metalle einzelne Eigenschaften der Pflanzen verändern. So bringt das Zink die sogenannten Galmeivarietäten, wie Thlaspi alpestre var. calaminare, Viola lutea var. calaminaria und andere hervor.

Diesen Notizen über Kupfer, Blei, Mangan, Zink sollen noch einige Bemerkungen über Kobalt hinzugefügt werden. Im Sommer 1900 stellte ich mit Kobaltoxydulnitrat folgenden Versuch an. Drei Teller wurden mit je etwa 3/4 l Boden versehen und N° 1 mit Gras, N° 2 mit Bohnen und N° 3 mit Salat besät. Die jungen Pflanzen wurden dann eine Zeit lang mit einer 1 ‰igen $Co(NO_3)_2$ Lösung begossen. Ich liess das Salz stets vom Rand des Tellers zufliessen, damit nicht etwa die Blätter der jungen Pflanzen mit der Lösung in Berührung kämen. Nachdem ca. 3/4 l des Salzes verbraucht waren, wässerte ich die Teller mit geringen Mengen einer 5 %igen Lösung $Co(NO_3)_2$ in der beschriebenen Weise. Später wurde das Salz mit Wasser vertauscht. Die Pflanzen gediehen trotz der grossen Menge Kobalt recht gut. Sie wurden von Zeit zu Zeit abgeschnitten, mit Wasser gewaschen, getrocknet und verascht und mit der Boraxperle

auf Co untersucht. Das Resultat war stets positiv. Spätere Grasernten zog ich mit Alkohol, Aether, Essigsäure, Salzsäure, Wasser aus. Es gelang auch in diesem Falle stets Kobalt mit der Boraxperle nachzuweisen und zwar in Auszügen und Rückständen. Die wässerigen Extrakte gaben aber nur dann eine blaue Boraxperle, wenn das Gras bereits im Wasser in Fäulnis übergegangen war.

Das Ergebnis dieses Versuches ist wohl folgendes : 1. Gras, Bohnen, Salat und wahrscheinlich auch viele andere Pflanzen werden von Kobaltoxydulnitrat bei wochen-, ja selbst monatelanger Einwirkung nicht abgetötet, vielleicht kaum geschädigt. Ein spezifisches Pflanzengift ist Kobalt also wohl sicher nicht. 2. Das dem Boden zugeführte Kobalt geht in die Pflanzen über, unter anderem wahrscheinlich auch in das Chlorophyll derselben. Dies steht in Analogie zu dem, was Tschirch (32) über das Kupfer festgestellt hat. Ob sich dabei die den Tschirch'schen Kupfersalzen entsprechenden Co-Salze in der Pflanze bilden, also Co-Leguminat, Co-Oleat und phyllocyaninsaures Kobalt, lasse ich dahingestellt. Die alkoholischen Chlorophyllextrakte fluorescierten jedenfalls prächtig, während Kupferphyllocyanat dies nach Tschirch niemals thut. Indes wäre es ja möglich, dass das Co-Salz der Phyllocyaninsäure in dieser Hinsicht vom entsprechenden Kupfersalze abwiche. Man hat gefunden, das 1—2 mgr. Co pro l. genügen, um das Wachstum der Pflanzen in Wasserkultur zu stören bzw. zu vernichten (16). Dies ist wohl möglich, wenn auch die Zahlen etwas niedrig scheinen. Boden und Wasserkultur sind eben sehr weit von einander verschieden. Tschirch filtrierte Kupfersulfat durch eine 20 c.c. hohe Bodenschicht und konnte dabei nicht blos eine Absorption sondern auch eine Spaltung des Sulfates konstatieren. Der Schwefelsäuregehalt des Filtrates stieg, aber kein Kupfer wurde darin gefunden. Letzteres trat erst dann im Filtrat auf, wenn die Sättigungskapazität des Bodens erreicht war. Eine Nährlösung zeigt ein solches Verhalten selbstverständlich nicht.

4. Verhalten kaltblütiger Tiere gegen Kobalt.

Zunächst will ich einige Worte über das weitaus geeignetste und daher von mir meist angewandte Kobaltsalz und seine Herstellung vorausschicken. Spenzer (20) und andere, die nach Antal's Vorschlag das $Co(NO_3)_2$ auf seine Verwendbarkeit bei Blausäurevergiftung weiter prüften, bemerkten bei den Tieren an der Injektionsstelle Entzündungserscheinungen, wie nicht anders zu erwarten war. Um solche lokale Wirkungen auszuschliessen, hat Anderson Stuart (18) ein Doppelsalz

hergestellt, welches allen Anforderungen entspricht. Als Vorbilder und Wegweiser dienten ihm dabei : das organische Zink-, Kupfer- und Bleisalz von E. Harnack, das organische Platinsalz Kebler's, das entsprechende White'sche Zinnsalz, das Eisensalz von Hans Meyer und Francis Williams und das Mering'sche Quecksilbersalz. Die Zubereitung des Stuart'schen Doppelsalzes ist zuerst von Heldt angegeben worden. Ich habe es nach Stuarts (18) Vorschrift folgendermassen bereitet : Zwei Gewichtsteile krystallisierte Citronensäure wurden in soviel starker Natronlauge unter Erwärmen aufgelöst, dass die Lösung neutral war, dann wurde noch 1 Teil der Säure hinzugethan. In der so dargestellten sauren Flüssigkeit wurde dann frisch gefälltes kohlensaures Kobaltoxydul unter Erwärmen bis zur Sättigung aufgelöst. Nach dem Erkalten filtrierte ich die Lösung des Doppelsalzes und bestimmte den Metalloxydulgehalt dadurch, dass eine gemessene Portion zur Trockne verdampft wurde. Dann glühte, wusch und trocknete ich dieselbe, übergoss sie mit Salpetersäure und trocknete und glühte abermals. Den Kobaltoxyduloxydgehalt ergab die nun folgende Wägung. Das so hergestellte Salz hat eine schöne braunviolette Farbe, ist in Wasser leicht löslich, ätzt nicht, giebt mit Eiweiss, mit Alkalihydraten und kohlensauren Alkalien keine Gerinnung. Seine Lösung reagierte alkalisch, aber kaum stärker als das Blutserum. Der einzige im wesentlichen wirksame Bestandteil desselben ist offenbar das Kobalt. Das Stuart'sche Salz besitzt somit alle Eigenschaften, die man zum Studium reiner Metallwirkung braucht.

Versuch 1. — Acht je ca. 30—40 gr. schwere Frösche bekamen zur Ermittelung der tötlichen Dosis von diesem Salze in den Rückenlymphsack Nr 1 und 2 je 0,009 gr. Co. (als Metall gerechnet wie bei allen folgenden Angaben) Nr 3 und 4 je 0,006 Co, Nr 5 und 6 0,005 und Nr 7 und 8 je 0,004 gr. Co. Nr 1 und 2 starben nach 2 Tagen; 3 und 4 nach 3 1/2 Tagen, Nr 5—8 blieben am Leben. Nach der Einspritzung trat Verdunkelung der Hautfarbe ein. Die Tiere blieben meist längere Zeit mit geschlossenen Augen still liegen und bewegten sich auf äussere Reize in einer trägen, zuckenden, ungeschickten Weise. Unter dem Einfluss des Kobalts wich die Ruhelage der Frösche oft erheblich vom Normalen ab. Etwas für diese Vergiftung Typisches konnte ich indes in diesen Positionen nicht finden, dazu variierten sie viel zu sehr. Fibrilläre Zuckungen wurden bei diesen und auch bei späteren Versuche selten gesehen; meist tonisch-klonische Krämpfe; krampfhaftes Gähnen wurde mehrfach beobachtet. Die Atmung war bei den grösseren Dosen recht bald unregelmässig und aussetzend. Im weiteren Verlaufe der Intoxikation kam es bei den mit der tötlichen Gabe versehenen Fröschen zu einer Parese ja fast zu einer Paralyse der Extremitäten, zu Krämpfen und zu Tetanus. Die Atembewegungen wurden immer unregelmässiger und seltener und hörten endlich ganz auf. Schliesslich sistierte auch die Herzpulsation. Die Sektion ergab eine unbedeutende Hyperämie des Darmkanals und hemisystolischen Herzstillstand.

Ergebnis : Die letale Dosis beträgt bei einmaliger subkutaner Vergiftung für einen Frosch von ca. 40 gr. etwa (nicht ganz) 0,006 gr. Co.

Versuch 2. — Vier Frösche wurden je mit 0,004 Co in Form des STUART'schen Salzes subkutan vergiftet und nach 2 Tagen getötet. Das Blut wurde nach den Absetzenlassen mit der Boraxperle auf Co untersucht. Bei dem Blutserum fiel die Probe positiv aus, die Blutkörperchen liessen in diesem Falle die Perle farblos. Die Prüfung der Organe, der Leber, Nieren, Ovarien, Ovidukte, Haut, des Magen- und Darminhaltes liess überall Kobalt nachweisen. Im Darm selbst hingegen konnte ich diesmal das Metall nicht finden. Nächst der Haut schien mir die Leber am meisten davon zu enthalten.

Ergebnis : Nach einmaliger subkutaner Vergiftung ist das Kobalt beim Frosch nach 2 Tagen fast in allen Organen und auch im Blute nachweisbar. Auffallend ist der reiche Kobaltgehalt der Haut. Dieses Organ scheint bei Fröschen wohl an der Ausscheidung des Metalles mit beteiligt zu sein. Nächst derselben scheint die Leber am meisten aufzuspeichern. (Eine solche Speicherung seitens der Leber ist für manche andere Metalle z. B. Kupfer und Eisen ja schon lange bekannt.)

Versuch 3. — Einem Frosche wurden vivisektorisch der Eingang und Ausgang des Magens und der Darm in der Mitte seiner Länge und am After unterbunden. Darauf bekam derselbe 0.006 gr. Co als STUART'sches Salz in den Rücken. In zwei Tagen erfolgte Exitus letalis. Der Darm enthielt im obereren und unteren Teile Kobalt. Magen und erster Anfang des Darmes waren frei davon.

Ergebnis : Entweder entstammt in diesem Versuche das Co der ersten Hälfte des Darmes zum Teil der von der Leber abgesonderten Co-haltigen Galle oder es ist lediglich von der Dünndarmwand abgesondert worden. Da bei Winterfröschen nach 5monatlichem Hungern die Gallenabsonderung minimal ist, dürfte auf die Galle wohl nur ein verschwindend kleiner Bruchteil des vorgefundenen Metalles zu setzen sein. Das der zweiten Hälfte kann natürlich nur durch die Darmwand selbst ausgeschieden worden sein, da durch die Ligatur eine Zuführung mit dem Darminhalte ausgeschlossen war. Die Abgabe dieses Metalles durch die Darmwand steht in bester Übereinstimmung mit der von CAHN jun. gefundenen Abgabe des intravenös eingeführten Mangans durch die Darmschleimhaut. Für das subkutan oder intravenös zugeführte Eisen hat zuerst STENDER (unter KOBERT) die Metallabscheidung durch die Darmschleimhaut unzweifelhaft dargethan.

Ich lasse jetzt prophylaktische bezw. immunisierende und antidotarische Versuche an Fröschen folgen.

Versuch 4. — Drei je ca. 40 gr. schwere Frösche bekamen Montag 1 Uhr 15 Minuten nachmittags je 0,006 gr. Co als STUART'sches Salz in den rechten Unterschenkel. Nr 1

gab ich nach 1 3/4 Stunden 0,013 Cyankalium. Letzteres wurde dicht vor der Verwendung immer mit Salzsäure neutralisiert. Am nächsten Sonnabend wurde der Frosch tot aufgefunden. Nr 2 injizierte ich nach 2 3/4 Stunden 0,013 HCN ebenso wie Nr 1 in den linken Unterschenkel. Der Tod trat nach 3 Tagen ein. Nr 3 wurde in gleicher Weise nach 5 1/2 Stunden behandelt. Auch dieser Frosch war nach 3 Tagen tot. Zwei andere Frösche Nr 4 und Nr 5 versah ich in einen Zwischenraum von 20 Stunden mit Kobalt und Cyankali. Die beiden Frösche verendeten nach 3 Tagen.

Ergebnis : Diese fünf Experimente wurden angestellt, um die immunisierende Wirkung des Kobalts auf KCN an Fröschen zu beobachten. Wie aus obigen Daten hervorgeht, besitzt Co für die Species Rana esculenta dem Cyankalium gegenüber scheinbar keinerlei nützliche Wirkung. Die Frösche hatten die tötliche Dosis Kobalt bekommen. Von der Cyankalilösung wurde zwar bloss 1/4 der für das verwandte Präparat ermittelten tötlichen Gabe injiziert. Wenn indes die Reaktion zwischen den Cyankali und dem Stuart'schen Salze im Froschkörper wie in vitro vor sich ginge, dann hätte durch das KCN soviel Kobalt entgiftet werden müssen, dass wenigstens einer von den Fröschen am Leben geblieben wäre. Nach diesem Misserfolge machte ich mich an die Umkehrung des Experimentes.

Versuch 5. — Vier Frösche wurden mit 0,05 HCN um 1/2 3 Uhr nachmittags vergiftet. Nach 1/2 Stunde bekam Nr 1 0,004 gr. Co, nach einer Stunde Nr 2 desgleichen und nach 1 1/2 Stunden Nr 3 ebenfalls. Nr 4 wurde ohne Antidot gelassen. Die Blausäure wurde in den Unterschenkel, das Stuart'sche Salz in den Rücken injiziert. Um sieben Uhr abends waren die Frösche tot. Nun gab ich 3 anderen auch ca. 40 gr schweren Fröschen zunächst die tötliche Dosis Blausäure (0,05 HCN). 15 Minuten später bekam Nr 1 0,0,012 gr. Co, Nr 2 erhielt 30 Minuten nachher 0,018 gr. Co, Nr 3 blieb ohne Kobalt. Am nächsten Tage fand ich die Frösche tot vor. Acht weitere Tiere, welche derselben nur etwas variierten Behandlung unterworfen wurden, gaben kein besseres Resultat.

Ergebnis : Kobalt besitzt für Frösche bei HCN-Vergiftung keine, oder höchstens eine ganz minimale antidotarische Wirkung.

Interessant ist, wie das Nachstehende zeigt, die lange Retention des Kobalts nach einmaliger Einverleibung.

Versuch 6. — Am 19. April 1900 bekam 1 Frosch 0,005 Co. Am 2. Mai 1900 starb er. Kobalt liess sich mit der Boraxperle nachweisen, in der Haut, in der Leber und am reichlichsten im Darm.

Ergebnis : Binnen 2 Wochen vermag der Frosch nicht einmal 5 milligr. Kobalt auszuscheiden.

Nach dem Stuart'schen Co Salze untersuchte ich noch das Kobalticyankalium bei Fröschen auf seine Giftigkeit. K_3CoCy_6 ist ja das angebliche Endprodukt bei der Antal'schen Blausäurebehandlung. Er

hält es für ungiftig. Dieselbe Ansicht herrscht bei manchen Chemikern. Die von mir hergestellte Kobalticyankaliumlösung erwies sich als ganz schwach aber nicht mehr messbar blausäurehaltig. Sie gab die PREYER'sche Guajakreaktion, nicht aber die Berlinerblauprobe. Als tötliche Dosis ergab sich in

Versuch 7 für einen 40 gr. schweren Frosch bei diesem Salze 0,009 gr. Co als Metall gerechnet. Kobalticyankalium ist also beim Frosch beinahe 1 3/4 mal weniger giftig wie STUART's Salz.

Ergebnis : Die Giftigkeit des Kobalticyankaliums ist doch noch so erheblich, dass von einer Ungiftigkeit dieses Salzes, wenigstens für Frösche, gar nicht geredet werden kann.

5. Verhalten warmblütiger Tiere gegen Kobalt.

KOBERT giebt als Metall gerechnet 0,007 gr. Co pro kgr. Kaninchen als tötliche Dosis an. Beim Frosch sind nach demselben Autor 0,065 gr. Co als Metall pro kgr. nötig, um eine letale Wirkung zu erzielen. Nach meinen ersten Versuchen mit dem STUART'schen Salze erschien diese Dose sogar noch zu klein, da das Salz bei mir erst in doppelt so grosser Gabe beim Winterfrosch den erwähnten Erfolg hatte. Bezüglich der Sommerfrösche musste ich allerdings vier Monate später zugeben, dass bei denselben die Minimaldosis Co in Form des STUART'schen Salzes nur die Hälfte der früher ermittelten beträgt. 0,003 Co töteten 40 gr. Frosch, was zu KOBERT's Angaben also schon eher stimmt.

Versuch 8. — Ein 1470 gr. schweres Kaninchen bekam subkutan 0,007 gr. Co pro kgr. Das Tier blieb anscheinend so munter wie zuvor. Ich konnte weder einen Einfluss auf die Herzaktion noch auf die Atmung konstatieren. Der zunächst schön braun gefärbte Urin enthielt nie Zucker oder Eiweiss. Auch die Funktion der Blase und des Darmes blieb normal. Im Harn und Kot liess sich bald reichlich Co nachweisen.

Die STUART'sche Beobachtung am ersteren, nämlich dass die Ammoniomagnesium-Phosphate des faulenden Urins von einer schönen Purpurfarbe sein sollen, habe ich nicht gemacht. Nach acht Tagen am 5. Mai wurden dem Kaninchen 0,013 gr. Co pro kgr. subkutan gegeben. An den folgenden Tagen bemerkte man eine leichte Diarrhöe. Im übrigen frass das Tier wie früher. Es zeigte nichts Pathologisches, abgesehen vom Kobaltgehalt des Kotes und des anfangs dunkelbraunen Harnes. Am 11. Mai wurde die Kobaltdosis verdoppelt (0,026 pro kgr.). Die Diarrhöe wurde etwas profuser, aber die von CHITTENDEN (21) und STUART (18) beobachtete Lähmung der hinteren Extremitäten wollte immer noch nicht auftreten. Am 17. Mai gab ich demselben Kaninchen wieder subkutan 0,042 Co pro kgr. Nach 20 Minuten fand man es tot.

Die **Sektion** ergab : Der Magen und Dünndarm waren in ganz geringem Grade entzündet. An den übrigen Organen war makroskopisch nichts Besonderes zu sehen.

Die **mikroskopische** Untersuchung liess in den geraden Harnkanälchen der Niere einzelne Cylinder wahrnehmen.

Chemische Untersuchung. Kobalt enthielten alle mit der Boraxperle zu diesem Zwecke geprüften Organe, z. B. die Darmwand, und zwar in der ganzen Länge, Hoden, Lunge, Leber, Blut. CHITTENDEN fand bei seinen Analysen einen besonders reichen Co-Gehalt in Herz, Lunge, Gehirn und Rückenmark. Soweit sich aus der Intensität der Boraxperlenfärbung und der Menge der veraschten Substanz schliessen lässt, ist dies Resultat für Herz und Lunge zu bestätigen. Gehirn und Rückenmark habe ich nicht untersucht. CHITTENDEN giebt den Körpergewichtsverlust auf ca. 1/3 des ursprünglichen Gewichtes an. Mein Tier wog nach dem Tode 1125 gr., hatte also mehr als 1/4 an Gewicht verloren.

Ergebnis I : Das Kobalt verteilt sich wie bei Fröschen so auch bei Warmblütern nach der Einspritzung unter die Haut wohl über alle Organe und lässt sich in diesen nachweisen. Die Ausscheidung erfolgt durch Harn und Kot. Der Kobaltharn der Pflanzenfresser ist je nach der Metallmenge mehr oder weniger dunkel.

Ergebnis II : Als wichtige weitere Thatsache folgt aus diesem Versuche, dass bei mehrfacher subkutaner Einverleibung rasch eine gewisse Immunität gegen Kobalt eintritt. Die tötliche Dosis Kobalt in Form des STUART'schen Salzes ist wahrscheinlich grösser als 0,007 pro kgr. Kaninchen, wenn sie auch jene fabelhafte Höhe, die FRÄNKEL (1), in seinem Buche ohne sie zu bezweifeln referierend anführt (0,170 pro kgr.), ganz sicher nicht einmal annähernd erreicht. Wodurch diese anscheinend geringere Toxicität unseres Salzes gegenüber den Angaben von KOBERT und STUART bedingt ist, lässt sich schwer sagen. An eine Beziehung zwischen physiologischer Wirkung und physikalischen Eigenschaften der Metalle kann man trotz der diesbezüglichen Angabe FRÄNKEL's doch nicht recht glauben, nachdem TSCHIRCH gelegentlich seiner Untersuchung über Kupfer nachgewiesen hat, dass das in Wasser leicht lösliche weinsaure Kupferoxydnatron, das nicht in Wasser, wohl aber in Salzsäure lösliche Kupferoxyd und das weder in Wasser noch in Säuren lösliche Kupferphyllocyanat ähnliche Minimaldosen haben. Damit hat auch der Satz von LEWIN : « CuO, wenn es nicht direkt mit Säuren zusammengenommen wird, ist als unschädlich zu betrachten », seine Gültigkeit bis zum gewissen Grade wenigstens für Versuchstiere verloren.

Versuch 9. — Am 21. Januar 1901 bekam ein 1500 gr. schweres Kaninchen 0,006 gr. Co subkutan. Nach drei Wochen wurde es bei bestem Wohlsein getötet. Der Sektionsbefund war gänzlich negativ. Co wurde nirgends mehr gefunden. Nur im Blutkuchen schien es mir noch in Spuren vorhanden zu sein, denn die Perle färbte sich charakteristisch. Folgende Organe wurden untersucht : Herz, Lunge, Leber, Nieren, Magen,

Darm, Magen- und Darminhalt, Milz, Bein- und Rückenmuskulatur, Gehirn und Rückenmark, Augen, Knochen, Blutserum und Blutkuchen.

Ergebnis : Das Blut ist vielleicht dasjenige Organ, welches das Kobalt am längsten enthält.

Versuch 10. — Ein fast 1000 gr. schweres Kaninchen bekam am 23. Februar 1901 0,020 gr. Co in Form von K_3CoCy_6-Lösung subkutan. Es blieb anscheinend vollkommen munter. Den 26. Februar 1901 wurden ihm 0,030 gr. Co von demselben Salze appliziert. Nach 24 Stnnden fand ich das Kaninchen auf der Seite liegend und fast total gelähmt vor. Die Atmung war sehr verlangsamt und ausserordentlich angestrengt. Beim dritten bis vierten Atemzuge öffnete das Tier den Mund krampfhaft. Schliesslich trat unter Krämpfen, Aufhören der Respiration und zuletzt der Herzpulsation der Tod ein. Der makroskopische Sektionsbefund war negativ. Harn und Kot enthielten Kobalt.

Ergebnis : Kobalticyankalium ist auch für Warmblüter durchaus nicht ungiftig, wenn es auch bedeutend weniger toxisch wirkt als manche andern Kobaltsalze. Dies ist von Interesse, weil sich wahrscheinlich, wie schon früher erwähnt, bei der HCN-Entgiftung durch Kobaltsalze diese Verbindung im Organismus bildet und ANTAL dieselbe für ungiftig hält. Unserer Ansicht ist auch HEYMANS (4). Er sagt : « Die Verbindungen, welche Cyankali mit Nickel- und Kobaltsalzen eingeht, sind zwar wesentlich weniger giftig als KCN, aber immerhin doch noch giftig. » Ich lasse jetzt einige antidotarische Versuche folgen.

Versuch 11. — Ein 2300 gr. schweres Kaninchen bekam 0,005 gr. von einer Blausäurelösung 10 Minuten vor 12 Uhr mittags den 26. Febtuar 1901 subkutan. Es erfolgte keine Reaktion. Um 3/4 5 Uhr nachmittags am selben Tage wurden 0,014 HCN subkutan gegeben. Da die Reaktion nach einer Stunde noch nicht eingetreten war, gab ich um 6 Uhr 7 Minuten 0,023 HCN wieder subkutan. Nach 7 Minuten begann die Wirkung. Das Tier hielt den Kopf auf die Seite. Die Atmung wurde verlangsamt und angestrengt. Das Kaninchen fiel wie gelähmt vom Stuhl herunter und blieb auf der Diele auf der Seite liegen. Etwa beim 3., 4., 5. Atemzuge öffnete es den Mund krampfhaft. Sofort als die ersten Intoxikationssymptome auftraten, gab ich 0,024 Co (STUART'sches Salz) subkutan. Nach 5 Minuten liessen sämtliche Erscheinungen nach. Gegen 7 Uhr abends hatte sich das Kaninchen fast vollkommen wieder erholt. Die Cyanwasserstoffsäure wurde am Rumpf in der Nähe der hinteren, das Kobalt dasselbst in der Nähe der vorderen Extremitäten injiziert. Das Tier wird gegenwärtig zu einem anderen Versuche benutzt. Es befindet sich wohl.

Versuch 12. — Einem 1700 gr. schweren Kaninchen wurden am 27. Februar 1901 5 1/4 Uhr nachmittags 0,020 gr. HCN subkutan gegeben. Beim Auftreten der erwähnten Vergiftungserscheinungen gab ich sofort 0,026 Co (STUART'sches Salz). Es war keine Besserung zu bemerken. Das Kaninchen schrie bei jedem Atemzuge kläglich. Deshalb wurden nach 10 Minuten noch 0,010 Co gegeben. Es war indes zu spät. Die Respiration sistierte und kurze Zeit nachher stand das Herz still. Künstliche Atmung und Herzmassage halfen nichts.

Versuch 13. — Einer 1900 gr. schweren Katze wurden 0,024 HCN subkutan beigebracht. Nach 3 Minuten traten die bekannten Zeichen ein, aber erst nach 6 Min. wurde das Antidot eingespritzt, 0,026 Co. Es vermochte den Tod nicht mehr fern zu halten.

Ergebnis von Versuch 10—13 : Eine antidotarische Wirkung gegenüber starker Blausäurevergiftung besitzt das STUART'sche Salz wohl kaum. Die von ANTAL behauptete antidotarische Wirkung des Kobaltoxydulnitrats ist dementsprechend mit grosser Wahrscheinlichkeit entweder gar nicht immer vorhanden oder meist doch nur sehr gering, die von ihm bedingten Gefahren aber sind gross.

Versuch 14 (Immunisierungs-Versuch). — Ein 8 kgr. schwerer Hund wurde mit 0,006 pro kgr. Co vergiftet. Nach 3/4 Stunden bekam er die noch nicht letale Gabe HCN, 0,060 gr. Nach 4 Minuten traten Zeichen schwerer Intoxikation ein, aber das Tier erholte sich vollkommen wieder. Kobalt war schon nach 3/4 Stunden im Harn nachweisbar. Zwei Tage später erhielt der Hund 3/4 Stunden nach Injektion derselben Co-Menge die wohl in vielen Fällen tötliche Dosis Blausäure (0,010 pro kgr.) subkutan. Vier Minuten nachher zeigte sich die Wirkung des Cyanwasserstoffes. Sogleich wurden 0,050 gr. Co gegeben, diesmal an der Stelle, wo die HCN eingespritzt worden war. Nach 15 Minuten besserte sich der Zustand des Hundes sichtlich. Indes schon 5 Min. darauf machte sich die Wirkung des Antidotes recht unangenehm bemerklich. Aus der Blausäureintoxikation wurde jetzt offenbar eine Kobaltvergiftung. Der Hund hatte plötzlich wieder unter furchtbarer Atemnot zu leiden. Die Extremitäten waren fast vollkommen paralytisch. Nur einzelne krampfhafte Zuckungen durchbrachen den lähmungsartigen Zustand. Lähmung und Zuckungen schwanden am Nachmittage, die Atemnot hielt jedoch mit geringer Intensität an. In der Nacht trat der Tod ein. Die **Sektion** ergab eine sehr starke Rötung und Schwellung der Magenschleimhaut. Letztere sowie die Schleimhaut des Darmes in der ganzen Länge desselben färbte die Boraxperle blau.

Ergebnis : Der Hund ist, wie ich glaube, schliesslich ***an Kobaltvergiftung zu Grunde gegangen,*** wenn auch sein Leben vorher zeitweise durch die Blausäureintoxikation auf das Äusserste gefährdet worden war. Obwohl er also diese letztere überstanden hat, scheint der Versuch doch nicht mit hinreichender Sicherheit weder für eine immunisierende noch für eine antidotarische Wirkung des Kobaltes zu sprechen.

Die vorstehenden Versuche haben mich zu der Ueberzeugung gebracht, dass Kobalt bei Blausäurevergiftung, falls der Fall ein schwerer ist, sicher im Stiche lässt.

Die Versuche an Warmblütern sind, das gestehe ich, ohne Kontrolltiere und spärlich ausgeführt; dies hat seinen Grund darin, dass mir und dem hiesigen pharmakologischen Institute nur knappe Mittel für solche Zwecke zugemessen sind. Mögen andere mit reicherem Tiermaterial

versehene Untersucher Erfreulicheres über die ANTAL'sche u. MEURICE'sche Weise der HCN-Entgiftung berichten können. Bevor dies geschehen ist, muss ich die Einführung dieser Entgiftungsmethode in die Menschenpraxis für noch nicht gerechtfertigt erklären und die Befürchtung aussprechen, dass durch dieselbe vermutlich mehr geschadet als genützt wird. Weitere Versuche unseres Institutes werden sich damit zu beschäftigen haben, ob die in Australien angegriffene (34) Wasserstoffsuperoxydmethode der Behandlung der Blausäurevergiftung nicht doch vielleicht weniger Gefahren und mehr Erfolg bietet als die Kobaltbehandlung. Auch die oben berührte interessante Frage, ob eine Immunisierung von Tieren gegen Kobalt, Nickel, Kupfer, etc. möglich ist, wird in unserem Institute weiter geprüft werden.

Litteratur.

(1) FRÄNKEL, S. : *Die Arzneimittel-Synthese.* Berlin, 1901, p. 10.
(2) FRÖHNER, EU. : Lehrbuch der Toxikologie für Tierärzte. Stuttgart, 1901, 2 Aufl.
(3) *Rhodankobalthydrat.* Chemiker-Zeitung, Jg. **24**, 1900, p. 519.
(4) HEYMANS : *Ueber Entgiftung.* Allgem. med. Zentrztg, 1900, N° 86, p. 1017.
(5) *Verhalt. von K_4CoCy_6 gegen O_2.* Berichte der Deutsch. Chem. Gesellschaft. Jg. **33**, 1900, p. 1742.
(6) MERCK, E. : *Bericht über das Jahr 1900,* p. 12—18.
(7) KUNKEL, A. J. : Handbuch der Toxikologie. Jena, 1899,
(8) VERBRUGGE, R. : *Toxicité des mononitriles gras et aromatiques et action antitoxique de l'hyposulfite de soude vis-à vis de ces mononitriles.* Dieses Arch. Vol. **5**, p. 161.
(9) WALKOW, K. : *Ueber die Entgiftung durch oxydierende Agentien.* Dieses Arch., Vol. **4**, p. 311.
(10) ERDMANN, H. : *Anorganische Chemie.* Braunschweig, 1898, p. 628, u. f.
(11) HEYMANS u. MASOIN : Dieses Arch. Vol. **3**, p. 359—367.
(12) LEWIN, L. : Lehrbuch der Toxikologie. Wien u. Leipzig, 1897, II. Aufl.
(13) v. JACKSCH, R. : *Die Vergiftungen.* Wien, 1897. (NOTNAGEL. Spez. Path. u. Ther. I Band.
(14) HEYMANS u. MASOIN : Dieses Arch. Vol. **3**, p. 77—172.
(15) HEYMANS : *Entgiftung von Malonitril.* DU BOIS-REYMOND's Arch. Physiologische Abt. 1897, 157—158. (Jahresbericht über die Fortschritte der Tierchemie. 1897, p. 77).
(16) *Schädliche Wirkung von Kobalt auf Pflanzen.* Landw. Jahrb. **24**, 1896, p. 959.

(17) Strasburger : Lehrbuch der Botanik. 2. Aufl., Jena, 1895, p. 144.

(18) Stuart, A. : *Ueber den Einfluss der Nickel- und Kobaltverbindungen auf den tierischen Organismus.* Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. Band **18**, 1884, p. 151 und Journ. of anat. und physiol. Bd. **17**, 1883, p. 89.

(19) Antal, J. : *Experim. Untersuchungen zur Therapie der Cyanvergiftungen.* Phys. Stud. aus dem Inst. d. Univ. Budapest. Wiesbaden, 1895, p. 117. (Schmidt's Jahrb. d. in- und ausländischen gesamt. Med. **249**, p. 130—131.)

(20) Spenzer, J. G. : *On antidotes for hydrocyanic acid.* Cleveland. med. Gaz. **10**, 1895, p. 353.

(21) Chittenden, R. H. and Charles Norris, Jr., Ph. B. : *The Relative Absorption of Nickel and Cobalt.* Studies from the Laboratory of Physiological Chemistry, Sheffield Scientific School of Yale University for the years 1887—1888. Vol. **3**. Edited by R. H. Chittenden. New Hafen 1889, p. 148.

(22) Lang, J. : *Studien über Entgiftungstherapie.* Erster Artikel : Die Entgiftung von Blausäure. Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. Bd. **36**, 1895, p. 75.

(23) *Schädliche Wirkung von Nickel auf Pflanzen.* Landw. Jahrb. **22**, 1894, p. 862.

(24) Bulatow, P. N. : *Ueber die physiologische Wirkung der Nickelsalze.* Inaug. Dissert. Petersburg, 1895.

(25) Dragendorff : *Ermittelung von Giften.* 4. Aufl. Göttingen, 1895.

(26) Kóssa, J. : *Zur Therapie der Cyanvergiftungen.* Centr.-Bl. f. d. med. Wissensch. 1894, N° 17, p. 289.

(27) Richter, M. : *Ueber Cyanvergiftung.* Prag. med. Wochenschr., Jg. **19**, 1894, N° 9 u. 11.

(28) Pascheles, W. : *Versuche über die Umwandlung der Cyanverbindungen im Tierkörper.* Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. Bd. **34**, 1894, p. 281.

(29) Kóssa, J. : *Neuere Beiträge zum chemischen Antagonismus zwischen Cyankalium und Kalium permanganicum.* Ung. Arch. f. Med. Bd. **3**, 1894, p. 57.

(30) Dammer, O. : Handbuch der anorganischen Chemie. Band **3**, (Stuttgart 1893), p. 390.

(31) Krohl, P. : Arbeiten d. pharm. Inst. zu Dorpat, **7**, 1891, p. 130.

32) Tschirch, A. : *Das Kupfer vom Standpunkte der gerichtlichen Chemie, Toxikologie und Hygiene.* Stuttgart 1893.

(33) Kóssa, J. *Ueber ein chemisches Gegenmittet bei Cyanvergiftungen.* Ung. Arch. f. Med. Bd. **2**, 1893, p. 12.

(34) C. J. Martin and Ph. A. O'Brien : *The value of Peroxyde of Hydrogen, Chloride of Cobalt and Ferrous Hydrate as Antidotes in poisoning by Cyanide of Potassium.* Intercolonial Medical Journal of Australia June 10, 1901.

(35) Arthur Rosenheim u. Ernst Huldschincky : *Methode zur quantitativen Trennung von Nickel und Kobalt.* Berichte d. Deutsch. Chem. Ges. Jg. **34**, 1901, p. 2050.

(36) Heymans : *Désintoxication des poisons cyanogénés par les sels des métaux lourds.* Bulletin de l'Acad. roy. de Méd. de Belgique, 1899, 30 septembre.

(37) Meurice, J. : *Intoxication et désintoxication de différents nitriles par l'hyposulfite de soude et les sels métalliques.* Dieses Archiv, **7**, 1900, p. 11.

Vorliegende Arbeit wurde im pharmakologischen Institut der Landes-Universität Rostock auf Veranlassung des Herrn Professor Dr R. Kobert ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, diesem meinem hochverehrten Lehrer meinen herzlichsten Dank für die freundliche Unterstützung und die wertwollen Ratschläge, die er mir während meiner Arbeit stets in reichem Masse zu teil werden liess, auch an dieser Stelle auszusprechen.

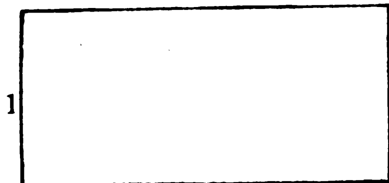
Rostock, October 1901.

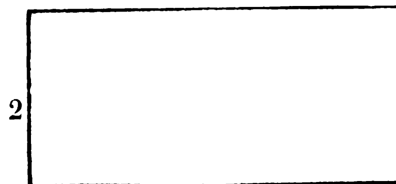


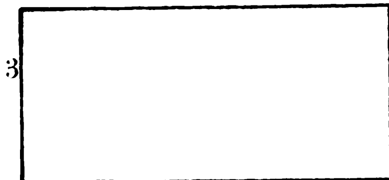
COLORATIONS

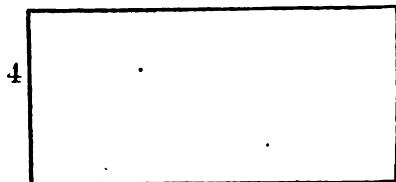
présentées par la mousse d'urines de sujets tuberculeux, après traitement par le réactif d'Ehrlich et l'ammoniaque.

Urines humaines (Diazoréaction positive)

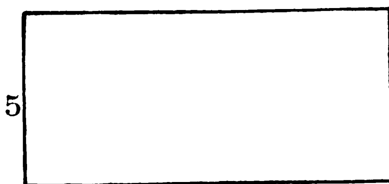
1 

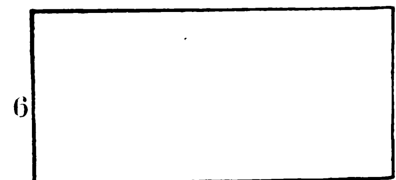
2 

3 

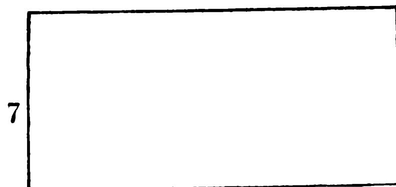
4 

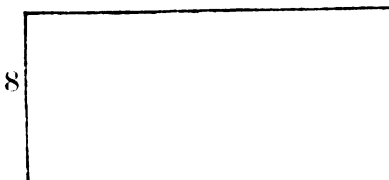
Urines de lapins (Diazoréaction positive)

5 

6 

Urines de lapins (Diazoréaction négative)

7 

8 

9 

Travail du laboratoire de pharmacodynamie et de thérapie de l'Université de Gand.

24. La diazoréaction d'Ehrlich dans la tuberculose expérimentale

PAR

le Docteur F. IMHOFF.

Le but de nos recherches a été d'abord d'étudier la diazoréaction d'Ehrlich dans la tuberculose expérimentale chez le lapin, afin d'en déterminer la valeur diagnostique et pronostique. Nous avons essayé ensuite de préciser les circonstances où se manifeste cette intéressante réaction urinaire.

Mais nous croyons indispensable de commencer notre travail par un chapitre de généralités, qui nous fournira l'occasion d'indiquer la technique suivie dans nos essais d'urines, et aussi de faire connaitre quelques observations personnelles dont plusieurs ne sont pas conformes aux idées de nos prédécesseurs.

Nous pensons également, qu'il est utile de rapporter les opinions des divers auteurs sur l'importance diagnostique et pronostique de la diazoréaction dans la tuberculose humaine.

Notre travail se composera donc des chapitres suivants :

I. — Généralités sur les urines donnant la diazoréaction — plus particulièrement au point de vue de la tuberculose.

II. — La diazoréaction dans la tuberculose humaine : sa valeur diagnostique et pronostique.

III. — La diazoréaction dans la tuberculose expérimentale du lapin.

IV. — Des facteurs agissant sur la diazoréaction dans la tuberculose.

I. — Généralités sur les urines donnant la diazoréaction — plus particulièrement au point de vue de la tuberculose.

Nous n'avons pas l'intention de nous étendre longuement sur l'historique de la diazoréaction d'EHRLICH. Rappelons cependant que cette réaction urinaire fut décrite pour la première fois en 1882 par EHRLICH (1); cet auteur lui attribua dès le début une grande importance dans le diagnostic du typhus abdominal, et le pronostic de la tuberculose. Il la considérait comme propre seulement à certaines urines pathologiques. D'autres arrivèrent à des résultats différents et la signalèrent même dans des urines normales : tels furent PENZOLDT (2), PETRI (3), ZARIBONI (4), TERRARI (5), etc. Mais l'opinion de ces derniers auteurs a perdu toute sa valeur depuis qu'EHRLICH (6) a indiqué d'une façon précise la composition du réactif à employer pour la recherche de la diazoréaction.

Voici comment il convient de procéder :

On prépare d'avance les deux solutions suivantes :

1re solution. — On dissout 5 gr. d'acide sulfanilique dans 50 gr. d'acide chlorhydrique concentré et on étend d'eau distillée jusqu'à parfaire 1 litre. On agite de temps en temps pour accélérer la dissolution qui est très lente;

2me solution. — On dissout 0,50 gr. de nitrite de sodium dans 100 c.c. d'eau distillée.

Le réactif d'EHRLICH s'obtient en mélangeant 1 c.c. de la solution de nitrite de sodium avec 50 c.c. de la solution d'acide sulfanilique. Très altérable, il doit être préparé extemporanément.

Dans ce réactif, l'acide chlorhydrique décompose le nitrite de sodium avec production d'acide nitreux : celui-ci agit sur l'acide sulfanilique. L'hydrogène de l'amidogène qui entre dans la constitution de l'acide sulfanilique, est brûlé par l'oxygène de l'acide nitreux; deux des atomicités de l'azote restant deviennent libres et sont saturées par deux des atomicités de l'azote contenu dans la molécule d'acide nitreux, et il se forme ainsi un

---

(1) P. EHRLICH : *Ueber eine neue Harnprobe.* Zeitschr. f. klin. Medicin, 1882, Bd. V, S. 285.

(2) F. PENZOLDT : *Ueber den diagnostischen Werth der Harnreaktion u. s. w.* Berliner klinische Wochenschr., 1883, S. 201.

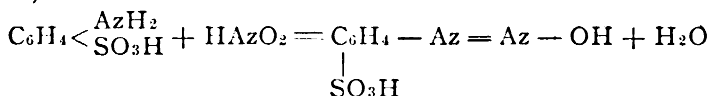
(3) PETRI : *Das Verhalten des Harnes Schwindsüchtiger u. s. w.* Zeitschr. f. klin. Medicin, 1883, VI, S. 472.

(4) R. ZARIBONI : Gaz. degl. Ospedali e delle Cliniche, 1894, no 36.

(5) T. TERRARI : Rivista veneta di scienze mediche, dec. 1893.

(6) P. EHRLICH : *Einige Worte über die Diazoreaktion.* Deutsche medicin. Wochenschr. 1883, nr 38.

composé diazoté : l'acide diazobenzène-sulfonique (ou plutôt l'anhydride interne de cet acide : $C_6H_4 - Az = Az$ qui en présence de l'eau, équivaut
$\diagdown SO_3 \diagup$
à l'acide) :



$$C_6H_4 < {AzH_2 \atop SO_3H} + HAzO_2 = \underset{SO_3H}{\underset{|}{C_6H_4}} - Az = Az - OH + H_2O$$

Les corps diazotés ou diazoïques peuvent être envisagés comme des composés de la formule générale $X' - Az = Az - R'$, où X' représente un groupe aromatique, et R' un résidu halogénique ou le radical hydroxyle.

Si on met en présence un diazocomposé et un phénol ou une aniline tertiaire, il y a formation d'un composé azoïque où le groupe $- Az = Az -$ se trouve uni à 2 noyaux aromatiques. Comme l'un de ces noyaux porte le radical OH ou un radical d'amine, il se produit une matière colorante dite azocouleur. Exemple :



$$C_6H_5 - Az = Az - R + C_6H_5OH =$$



$$C_6H_5 - Az = Az - C_6H_4OH + HR,$$

et pour le cas particulier de l'acide diazobenzène-sulfonique :





$$\underset{SO_3H}{\underset{|}{C_6H_4}} - Az = Az - OH + C_6H_5OH =$$



$$C_6H_5 - Az = Az - C_6H_4OH + H_2SO_4$$

Avec les phénols, il faut opérer en milieu alcalin(1).

Toute réaction de coloration, où l'on obtient ainsi dans l'urine un corps azoïque aux dépens d'un composé diazoïque, porte le nom de diazoréaction urinaire.

Pour rechercher la diazoréaction d'Ehrlich dans une urine, on mêle intimement 4 c.c. de celle-ci et 4 c.c. de réactif d'Ehrlich dans une petite éprouvette, on y ajoute 1 c.c. d'ammoniaque, et on agite vivement.

Les urines normales et le plus grand nombre des urines pathologiques ainsi traitées prennent une coloration d'un jaune plus ou moins foncé et orangé; la mousse produite par l'agitation est jaunâtre ou orangé pâle : on sait, en effet, que l'urine contient toujours des traces de phénol (ou de phénylsulfate potassique), qui a la propriété de se colorer en orangé par le réactif diazoïque et l'ammoniaque. Mais certaines urines pathologiques peuvent renfermer des substances capables de communiquer au liquide, après semblable traitement, une coloration d'un rouge plus ou moins intense, la mousse est dans ce cas rosée : c'est là la vraie diazoréaction d'Ehrlich; nous dirons, simplement, diazoréaction.

(1) Certains corps de la série grasse fournissent aussi des composés azoïques.

Différents auteurs ont proposé de remplacer, dans la préparation du réactif diazoïque, l'acide sulfanilique par le p-amidoacétophénone (ou acétyl-p-amidobenzène); mais le réactif indiqué par Ehrlich reste de beaucoup le plus employé, et nous nous en sommes exclusivement servi afin de nous placer le plus possible dans les mêmes conditions que la grande majorité des expérimentateurs.

Quoique la diazoréaction s'observe surtout dans les urines fortement colorées, il nous est arrivé maintes fois de l'obtenir avec des urines jaune pâle de tuberculeux; il ne faudrait pas non plus s'imaginer qu'elle se rencontre toujours dans les urines très colorées, car on serait bien loin de la vérité. Ces constatations faites avec les urines humaines, nous les avons vérifiées chez les lapins tuberculeux : si on examine à la page 379 le tableau II, on voit que l'urine du 7 juin était jaune et celle du 10 juin jaune pâle : toutes deux ont cependant fourni un résultat positif; au contraire, si on jette un regard sur le tableau V (pages 383 et 384), on s'aperçoit que les urines des 4, 5, 23, 31 mai et 3 juin étaient très foncées et ne s'en sont pas moins comportées négativement.

Dans nos essais, la coloration de la mousse nous a paru, comme à Ehrlich et à beaucoup d'autres, être le plus sûr, disons même, dans bien des cas, le seul caractère sur lequel il soit permis de se baser pour décider s'il y a, ou s'il n'y a pas diazoréaction. Il existe en effet des causes d'erreur à éviter : ainsi certaines urines concentrées et apparemment riches en phénol ou composés analogues, prennent après traitement une couleur orangé foncé et même rouge, mais la mousse n'est pas rouge ou rose, elle est jaune ou orangée, et dès lors nous n'admettons pas qu'il y ait diazoréaction.

Par contre, des urines humaines peu concentrées, par exemple dans la tuberculose, peuvent ne prendre après le traitement qu'une teinte orangé légèrement rougeâtre, tout en fournissant une mousse rose. Il en est de même pour les urines des lapins tuberculeux : si l'on veut bien s'en rapporter aux indications du tableau V, on remarquera que l'urine du lapin 23 donnait le 20 mai une coloration orangé rougeâtre par le réactif diazoïque et l'ammoniaque, mais la mousse était orangée, aussi le résultat fut-il considéré comme négatif. Au contraire, le 10 juin, l'urine du même lapin prenait une teinte orangé foncé, tandis que la mousse était rose pâle et le résultat fut considéré comme positif. Il nous aurait été facile de multiplier les exemples.

Coste a proposé une échelle permettant de mieux préciser la coloration du liquide et de la mousse; mais cette échelle, sans doute utile quand il

s'agit d'observations chez l'homme, n'aurait pu nous servir dans nos recherches, parce que chez le lapin, les teintes sont toujours atténuées et rarement pures (1).

Zunz (2) conseille de concentrer l'urine au bain-marie quand il y a polyurie, pour rendre plus évidente la couleur de l'écume : chez l'homme, ce moyen ne nous a pas donné des résultats bien satisfaisants. Dans le cas des urines de lapins, le fait de concentrer nous a paru plutôt défavorable : dans plusieurs circonstances, la mousse, au lieu d'être rose foncé, acquérait une coloration brunâtre où il était fort difficile de retrouver du rouge; et cependant, ces mêmes urines non concentrées, ou ramenées après concentration par une quantité d'eau distillée convenable à leur état primitif de dilution, fournissaient une écume nettement rose.

On a aussi recommandé pour débarrasser l'urine de certaines matières masquant la diazoréaction, d'employer le charbon d'os, mais celui-ci s'empare également de la substance qui donne la diazoréaction.

Quand, après avoir obtenu une diazoréaction positive avec une urine, on laisse reposer le liquide, il se produit très fréquemment, grâce à l'excès d'ammoniaque, un précipité de composés divers. Ceux-ci absorbent une grande partie de la matière colorante et forment après 12 à 24 heures, au fond de l'éprouvette, un dépôt qui chez l'homme a ordinairement une teinte lie-de-vin brunâtre; quelquefois, la partie supérieure est gris bleuâtre ou violacée. La coloration de ce précipité, selon nous, est loin d'avoir l'importance de celle de la mousse. Chez le lapin, le précipité est souvent absent, et sa teinte n'a guère de valeur : nous avons constaté avec les urines des lapins tuberculeux, dans le cas de diazoréaction positive,

(1) Nous avons annexé à ce travail une planche chromolithographiée, reproduisant assez exactement les colorations de mousse que nous avons surtout rencontrées.

Les rectangles rosés 1 à 6 se rapportent à des essais nettement positifs ; ils ont été rangés en ordre d'intensité décroissante, par rapport au rouge. Ils représentent, principalement 1 à 4, des teintes observées chez l'homme tuberculeux ; les colorations 5 et 6, et aussi les teintes intermédiaires entre 6 et la couleur jaunâtre 7, mais plus rapprochées de 6 que de 7, sont plus spéciales au lapin tuberculeux.

Les essais dits douteux correspondent à des colorations intermédiaires entre 6 et 7, mais plus voisines de 7.

Les teintes 7, 8 et 9, au contraire, concernent des essais franchement négatifs chez le lapin tuberculeux. Elles sont identiques à celles qu'on rencontre chez le lapin normal. — Nous les avons placées par ordre d'intensité croissante relativement au jaune d'ocre ou à l'orangé.

(2) E. Zunz : *La diazoréaction d'*Ehrlich. Bull. de l'Acad. royale de Méd. de Belgique, IVe série, t. XIV, n° 7, 1900, p. 553.

comme dans le cas de diazoréaction négative, des précipités bruns, brunâtres, orangés, jaune sale. Les seuls qui nous aient paru caractériser une diazoréaction positive étaient gris rosé, mais nous les avons rencontrés rarement (tableau V, lapin 23, le 30 avril).

Une diazoréaction positive s'étant produite, on remarque d'abord que la coloration de la mousse disparaît assez rapidement : on ne l'observe plus en général au bout d'une demi-heure, d'une heure au plus. Dans nos recherches chez les lapins tuberculeux, nous avons été témoin d'une fugacité extrême de cette coloration : la mousse n'était rose que pendant quelques secondes. Le fait s'est présenté trois ou quatre fois seulement.

Le liquide lui-même passe à l'orangé après quelques heures, et pâlit encore dans la suite. Le précipité, lui aussi, de lie-de-vin brunâtre, finit par devenir grisâtre, mais ce changement de teinte ne se produit qu'après plusieurs jours.

La matière colorante rouge, formée dans l'urine à la suite de la diazoréaction, ne résiste pas aux acides : il suffit de verser dans le liquide alcalin un petit excès d'acide acétique, pour le voir devenir jaunâtre. De plus la couleur rouge, une fois qu'elle a disparu par l'action d'un acide, ne réapparaît plus ni par l'ammoniaque, ni même sous l'influence d'un nouveau traitement par le réactif diazoïque et l'ammoniaque.

Jusqu'ici nous avons supposé le cas d'une urine naturellement acide et où par conséquent l'addition du réactif acide n'apporte sous ce rapport aucune modification qualitative. Voyons maintenant comment se passent les choses avec une urine alcaline : soient, par exemple, 4 c.c. d'une urine alcaline donnant la diazoréaction ; si au lieu d'y mêler d'emblée les 4 c.c. de réactif diazoïque, nous y introduisons seulement une quantité insuffisante de ce réactif pour neutraliser l'alcalinité des 4 c.c. d'urine, supposons 1 c.c., l'azocouleur rouge apparaît parce que le milieu est alcalin. Si maintenant nous y ajoutons les 3 autres c.c., dès qu'il y a un excès d'acide (une urine fraîche n'est jamais assez alcaline pour ne pas devenir acide en présence d'une quantité égale de ce réactif acide), l'azocouleur produite se détruit définitivement, et quand cette dernière s'était formée aux dépens non pas d'une partie, mais de toute la substance chromogène contenue dans les 4 c.c. d'urine, l'addition d'ammoniaque n'a plus aucun effet : le liquide reste jaune. L'introduction brusque de toute la dose de réactif, dans le cas d'une urine alcaline, réduit ce danger de beaucoup, parce que la transformation du milieu alcalin en milieu acide s'opère alors trop vite pour qu'une quantité appréciable d'azocouleur ait le temps

de se constituer. Mais il est préférable, cela se conçoit, de neutraliser l'urine par l'acide acétique avant d'y mêler le réactif.

De la destruction de la matière colorante par un excès d'acide, résulte aussi le fait suivant : si au mélange d'urine et de réactif, on ajoute l'ammoniaque goutte à goutte et en agitant, chaque goutte d'ammoniaque, arrivant d'abord en contact avec la surface de ce mélange, en neutralise à ce niveau une certaine partie et il se développe par conséquent une quantité plus ou moins grande de matière colorante bientôt détruite par l'excès d'acidité de la masse, qui persiste tant que l'ammoniaque n'a pas été introduite à dose suffisante. Si au contraire on verse l'ammoniaque en une fois, le milieu devient trop vite alcalin, pour qu'une partie appréciable d'azocouleur puisse être détruite. Nous préférons même, pour être plus sûr d'avoir à tout moment un excès d'alcalinité, introduire préalablement l'ammoniaque dans l'éprouvette et y verser ensuite, par portions et en agitant, le mélange d'urine et de réactif.

A quelle substance faut-il attribuer la diazoréaction d'EHRLICH? VON JAKSCH croit qu'elle est due à l'acétone, MUNSON et OERTEL(1) à l'acide diacétique. Mais WARTHIN(2) et SPIEDHOFF ont prouvé que l'urine renfermant de l'acide diacétique ne donne pas la diazoréaction quand on se sert d'une solution à 1/2 % de nitrite de sodium. — ARNEILL ne l'a pas obtenue non plus dans le cas de diabète avec acétonurie. Il est certain que cette substance n'est pas volatile à une température voisine de 100°, puisqu'on peut réduire à siccité au bain-marie des urines à diazoréaction et constater de nouveau celle-ci avec la solution du résidu. Actuellement, il est impossible d'affirmer que la même substance soit en cause dans toutes les circonstances.

Ce qui nous porte à croire que nous avons affaire à une matière capable de donner une vraie azocouleur, c'est que le composé coloré formé sous l'influence du réactif diazoïque et de l'ammoniaque peut se fixer sur des fragments d'étoffe de soie blanche et leur communiquer une teinte saumon pâle.

Pour CLEMENS, il y aurait plusieurs substances pouvant donner la diazoréaction rouge. Ces substances résisteraient à la température de l'ébullition en milieu acide, mais se détruiraient en milieu alcalin. En ce qui concerne cette destruction quand le milieu est alcalin, nos expériences nous ont amené à une conclusion différente : une urine à diazoréaction,

(1) L. MUNSON and H. OERTEL : *The cause of* EHRLICH'*s diazoreaction, with a discussion of its diagnostic and clinical significance*. New-York medical Journal, 1893, t. LVII, p. 127.

(2) A. S. WARTHIN : *Additional notes on the diazoreaction*. Medical News, 1893, p. 569.

alcalinisée par la soude caustique et évaporée au bain-marie, fournit un extrait qui, neutralisé par l'acide acétique et dissous dans une quantité d'eau convenable pour obtenir le volume primitif de l'urine soumise à cette expérience, donne encore et nettement la diazoréaction. Nous avons refait l'essai plusieurs fois, et toujours avec le même résultat.

La substance en question est oxydable : elle est décomposée par l'eau oxygénée. Dans cette expérience, pour écarter toute cause d'erreur, il faut dessécher au bain-marie le mélange d'urine et d'eau oxygénée afin d'éliminer H_2O_2, et reprendre le résidu par l'eau distillée.

Les auteurs qui ont fait des études sur les urines à diazoréaction, prétendent que ces urines perdent leur propriété le plus souvent quelques heures après leur émission; nous avons aussi entrepris des recherches pour voir dans quelle mesure la chose est bien exacte.

Différentes portions d'un même échantillon d'urine donnant avec intensité la diazoréaction, conservées pendant plusieurs jours dans des conditions variées, nous ont fourni les résultats suivants, les expériences ayant commencé le 6 mai..

1° Urine stérilisée par l'ébullition et conservée dans un tube scellé à la lampe : examinée le 14 mai, cette urine donnait une mousse rose carmin (comme le 6 mai).

2° Urine stérilisée par l'ébullition dans une éprouvette bouchée par un tampon d'ouate : le 14 mai, était encore acide et fournissait une mousse rose carmin.

3° Urine additionnée d'acide borique, éprouvette non fermée : le 14 mai, mousse rose carmin.

4° Urine non stérilisée, conservée en tube scellé à la lampe : le 15 mai, était alcaline et donnait une mousse rose.

5° Urine bouillie, conservée dans une éprouvette ouverte : le 15 mai, était encore acide; la diazoréaction était très intense (mousse rose foncé).

Nous avons répété l'expérience 1 sur une plus grande échelle et constaté qu'une telle urine se maintient en son état primitif dans un flacon ordinaire fermé par un bouchon de liège, au moins pendant plusieurs semaines, si l'on a stérilisé le tout soigneusement par l'ébullition.

Nous pouvons en tirer les conclusions suivantes :

1° Les urines à diazoréaction, mises à l'abri des ferments organisés après ébullition ou rendues infermentescibles par addition d'acide borique (tous les antiseptiques ne conviennent pas, ainsi l'acide phénique ne peut être employé à cause de la coloration orangée qu'il donne avec le réactif diazoïque et l'ammoniaque, coloration suffisante pour masquer la diazo-

réaction rouge), ne subissent pas de modifications dans leur propriété chromogène.

2° L'oxygène de l'air ne semble guère avoir d'action sur ces urines pourvu qu'elles soient soustraites à l'influence des ferments organisés.

Mais nous pouvons encore compléter cette étude :

Une urine à diazoréaction étant conservée dans un flacon quelconque sans avoir été stérilisée, différentes éventualités sont possibles :

1° L'urine, tout en restant plus ou moins acide (quand il s'agit d'une urine acide), perd au bout de 2 ou 3 jours en moyenne, et définitivement, la propriété de donner la diazoréaction. Le fait s'est montré exceptionnellement au cours de nos recherches chez l'homme, et, nous a-t-il semblé, avec les urines pauvres en matière chromogène. Les urines alcalines des lapins tuberculeux se comportent souvent de même.

2° L'urine fermente sans que la diazoréaction cesse à aucun moment de se présenter; l'urine ammoniacale, essayée comme nous l'avons indiqué à propos des urines alcalines, continue à la montrer plus ou moins nettement.

3° Enfin, et c'est le cas le plus fréquent chez l'homme autant que nous ayons pu en juger, l'urine, après avoir cessé vers le 3e jour de donner la diazoréaction, la présente de nouveau vers le 8e ou le 9e, quand la fermentation ammoniacale s'est produite. Nous avons récemment(1) à la Société de Médecine de Gand signalé cette curieuse particularité que nous avons rencontrée dans la fièvre typhoïde et dans la tuberculose.

On peut se demander si c'est la même substance qui donne cette diazoréaction secondaire et la diazoréaction primaire, ou s'il ne s'agit pas plutôt d'un produit de putréfaction. Nous sommes disposé à admettre la première hypothèse : en effet, nous n'avons jamais vu ni une urine normale, ni même une urine pathologique mais caractérisée par l'absence de diazoréaction, se comporter ainsi. La diazoréaction secondaire se constate encore très nettement dans des urines vieilles de deux mois.

Si l'on mêle de l'urine donnant la diazoréaction avec une quantité égale d'une urine ne la donnant plus provisoirement, il se peut parfaitement que cette réaction ne se manifeste pas dans le mélange ; et cependant, si on traite chaque urine séparément par le réactif diazoïque avant de faire le mélange et d'alcaliniser par l'ammoniaque, l'essai est positif.

Nous avons tâché de résoudre la question de savoir si c'est l'urine à

(1) F. Imhoff : *Quelques observations relatives aux urines présentant la diazoréaction d'Ehrlich*. Bull. de la Soc. de Méd. de Gand, juin 1901, p. 264.

diazoréaction ou le réactif diazoïque, qui, dans cette circonstance, se trouve influencé par l'urine altérée, et pour cela nous avons mêlé de diverses façons les deux urines, le réactif et l'ammoniaque.

Pour nous faire plus facilement comprendre, nous résumons ainsi ces expériences :

Soient :

UD, une urine fraîche à diazoréaction,

Ud, une urine ne donnant plus la diazoréaction,

R, le réactif,

Am, l'ammoniaque.

A) (2 c.c. UD + 2 c.c. R) + (2 c.c. Ud + 2 c.c. R) + 1 c.c. Am = résultat positif.

(Ici chaque urine a été traitée de son côté par le réactif, on a mélangé ensuite et ajouté l'ammoniaque.)

B) 2 c.c. UD + 2 c.c. Ud + 4 c.c. R + 1 c.c. Am = résultat négatif.

c) 2 c.c. UD + 2 c.c. Ud + 8 c.c. R + 2 c.c. Am = rés. nég.

D) 2 c.c. UD + 2 c.c. R + 2 c.c. Ud + 2 c.c. R + 1 c.c. Am = rés. nég.

E) 2 c.c. Ud + 2 c.c. R + 2 c.c. UD + 2 c.c. R + 1 c.c. Am = rés. pos.

F) 2 c.c. UD + 2 c.c. R + 1 c.c. Am + 2 c.c. Ud = rés. pos.

G) 2 c.c. UD + 2 c.c. R + 2 c.c. Ud + 1 c.c. Am = rés. nég.

D'après ces résultats, on constate que l'ordre suivi dans la façon de procéder est loin d'être indifférent.

L'expérience C nous apprend qu'un excès de réactif ne donne pas de coloration rouge avec le mélange des deux urines. On pourrait donc supposer que l'urine Ud renferme une quantité suffisante d'un corps X capable d'annihiler l'effet de cet excès de réactif; mais alors, comment expliquer le résultat positif fourni par l'expérience E, où forcément on doit admettre la destruction de ce corps par la quantité ordinaire de réactif. Donc, le réactif n'est pas en cause; l'urine Ud agit réellement sur l'urine UD et même sur la substance Y, produite par l'action du réactif sur l'urine UD (expérience D).

L'expérience G prouve que le corps X agit bien directement sur la substance Y; celle-ci n'est pas influencée par la substance Y', produite par l'action du réactif sur Ud (expérience E).

Le corps X n'a pas d'action sur la matière colorante rouge (expérience F).

Pour compléter ce chapitre, mentionnons les principales affections au cours desquelles la diazoréaction a été rencontrée et qui sont, à peu près

par ordre de fréquence : le typhus abdominal; le typhus exanthématique; la rougeole; la tuberculose (pulmonaire, méningée, péritonéale, etc.); la scarlatine; la septicémie; la pyohémie; la pneumonie; la pleurésie avec exsudat; l'érysipèle; la diphtérie; l'influenza; la malaria; la fièvre jaune; enfin, les carcinomes et les sarcomes.

Dans cette énumération, on remarquera que nous avons mis en bonne place la tuberculose : on verra, dans le chapitre suivant, jusqu'à quel point il en est ainsi.

II. — La diazoréaction dans la tuberculose humaine : sa valeur diagnostique et pronostique.

Nous avons déjà dit qu'EHRLICH avait, dès le début de ses recherches, considéré la diazoréaction comme ayant une signification importante dans le pronostic de la tuberculose. Depuis, nombre de cliniciens se sont occupés du même sujet : nous allons résumer les résultats auxquels sont arrivés les principaux d'entre eux.

D'une manière générale la diazoréaction serait d'une grande fréquence dans les diverses formes de tuberculose aiguë. On la constaterait moins souvent dans les cas chroniques, surtout les formes apyrétiques; très rarement même dans la tuberculose ganglionnaire (KROKIEWICZ).

Dans 13 cas mortels de pneumonie caséeuse aiguë, FRÄNKEL et TROJE(1) l'ont observée 11 fois (84 %).

D'après CLEMENS, une diazoréaction positive existe chez 20 à 30 % des phtisiques : on la rencontrerait dans 87 % des cas mortels.

RÜTIMEYER(2) aboutit à peu près aux mêmes résultats : il a trouvé la diazoréaction dans 85 % des cas mortels et seulement dans 9 % des cas légers.

Sur 82 cas de tuberculose pulmonaire examinés par ARNEILL, 42, soit 51 %, donnèrent un résultat positif. Ces derniers malades étaient les plus gravement atteints. SCHRÖDER et NAEGELSBACH(3) ont constaté une diazoréaction positive chez 11 à 12 % des tuberculeux. Ayant pu suivre la marche de la tuberculose chez un certain nombre de malades, ils ont vu mourir, après 3 ou 4 mois, la plupart de ceux qui avaient fourni un

(1) A. FRÄNKEL und G. TROJE : *Ueber die pneumonische Form der acuten Lungentuberculose.* Zeitschr. f. klin. Medicin, 1894, Bd. XXIV., S. 30.

(2) L. RÜTIMEYER : *Ueber den klinischen Werth der Diazoreaktion.* Correspondenzbl. f. schweitzer Aertze, 1890, Bd. XX, S. 186.

(3) G. SCHRÖDER und W. NAEGELSBACH : *Diazoreaktion im Harne und Bacterienbefunde im Blute von Phthisikern.* Münchener medicin. Wochenschr., 1899, S. 1339.

résultat positif. MICHAELIS(1) a observé une assez grande quantité de tuberculeux : 80 phtisiques sur 111 qui montraient une diazoréaction positive moururent dans les 6 mois (72 %). Chez 56 phtisiques à diazoréaction négative, il ne constata que 3 décès (5 %). Non seulement il attribue une grande valeur diagnostique à ce caractère, mais même, d'après lui, ce serait le moyen de décider de la curabilité ou de l'incurabilité d'un cas déterminé de tuberculose. Il ne faudrait pas envoyer ces malades à diazoréaction dans un sanatorium.

ZUNZ a recherché la diazoréaction chez 28 malades arrivés à la dernière période de la tuberculose : parmi 18 phtisiques ayant fourni un résultat positif, 10 moururent dans les 3 mois (55 %); parmi les 10 autres il n'y eut que 2 décès (20 %) dans le même laps de temps.

HÈZE(2) a fait à des constatations à peu près analogues.

En résumé, ces différents auteurs attribuent donc une grande importance à la diazoréaction d'EHRLICH, dans le diagnostic et surtout le pronostic de la tuberculose.

Dans ces derniers temps principalement, cette manière de voir a été assez vivement combattue et tout récemment, à la Société de médecine interne de Berlin (séance du 20 mai 1901), STADELMANN, dans une communication sur la tuberculose, rapportait que la diazoréaction disparaît pour quelque temps, ou même ne se montre pas chez des sujets très gravement atteints, tandis qu'elle apparaît quelquefois dans des formes bénignes. Il en concluait que ce moyen d'investigation n'a aucune valeur diagnostique, et une valeur pronostique très discutable. Il a rencontré la diazoréaction dans 36 % des cas.

BURGHART partage l'opinion de STADELMANN au point de vue du pronostic, mais prétend qu'on ne saurait nier une certaine utilité à la recherche de la diazoréaction au point de vue du diagnostic.

Comme nous n'avons jusqu'ici que rarement recherché la diazoréaction dans l'urine des tuberculeux, les éléments que nous avons réunis sont trop peu nombreux pour nous permettre d'intervenir dans cette question. Toutefois, nous croyons bien faire en rapportant ici succinctement l'histoire d'un de nos malades, chez lequel la diazoréaction s'est

(1) M. MICHAELIS : *Ueber Diazoreaktion bei Phthisikern und ihre prognostische Bedeutung.* Zeitschr. f. diätetische und physikalische Therapie. 1899, Bd. III, Heft. 2. — *Ueber die diagnostische und prognostische Bedeutung der Diazoreaktion bei Phthisikern.* Berliner klinische Wochenschr. 1900, No 13, S. 274.

(2) HÈZE (de Lille) : *Contribution à l'étude de la diazoréaction d'Ehrlich.* Archives provinciales de Méd., t. II, no 10, 1900, p. 437.

nettement manifestée à chaque analyse d'urine, et où la marche de la maladie semble, pour le moment au moins, appuyer les idées de STADELMANN et de BURGHART.

Ce malade, âgé de 38 ans, aurait présenté autrefois des adénites cervicales chroniques qui se seraient guéries sans suppuration.

Nous l'avons examiné pour la première fois le 22 avril 1901. A cette époque il existait une fièvre de 39° à 39°5; il y avait 40 respirations par minute, le pouls très rapide était presque imperceptible.

Ce malade se plaignait surtout de gêne respiratoire et d'une toux particulièrement pénible. Selon ses dires, cette situation durait depuis 15 jours, mais le début de la maladie remontait au mois de janvier de cette année-ci; il aurait alors souffert d'un point de côté à gauche. Avant cela, il ne toussait guère, parait-il. Il n'y aurait jamais eu la moindre hémoptysie.

L'exploration de la poitrine nous révéla l'existence d'un épanchement assez considérable dans la cavité pleurale gauche, et les signes d'une tuberculose assez avancée au sommet des poumons. Les crachats renfermaient des bacilles de KOCH nombreux, de forme longue et noueuse. Deux ponctions évacuatrices faites à 24 heures d'intervalle donnèrent issue en tout à 500 c.c. de liquide séro-sanguinolent; celui-ci ne renfermait pas de bacilles de KOCH.

Cette opération eut pour conséquence une atténuation graduelle de la dyspnée, et actuellement il n'y a plus que 20 respirations par minute; la toux est également moins fréquente et moins pénible. Mais il y a toujours, de temps à autre, de légères poussées fébriles. La diazoréaction urinaire existe *encore*, mais est peut-être moins intense qu'il y a 2 mois.

L'appétit est heureusement resté bon, et ce malade, en plus de sa nourriture habituelle, consomme de la viande de mouton crue, dont l'effet semble excellent.

Avant le mois de janvier ce sujet pesait 63 kgr.

Le 28 mai,	son poids était de	59 kgr. 900 gr.
» 31 »	»	60 kgr. 700 gr.
» 4 juin	»	60 kgr.
» 15 »	»	61 kgr.
» 26 »	»	61 kgr. 100 gr.

Il y a donc une tendance manifeste à l'augmentation de poids; de plus cet homme a repris en grande partie son travail habituel.

Nous ne pouvons cependant nous résoudre à porter chez ce tuberculeux un pronostic favorable, l'affection déjà bien prononcée (caverne

à droite) étant susceptible de prendre d'un moment à l'autre une tournure plus grave.

III. — La diazoréaction dans la tuberculose expérimentale du lapin.

Nous avons fait toutes nos recherches dans le laboratoire de thérapeutique et de pharmacodynamie de l'Université de Gand, dirigé par M. le professeur HEYMANS.

Dans le tableau I se trouvent consignés les résultats des analyses urinaires au point de vue de la diazoréaction chez 41 lapins, dont 12 étaient réunis par couple dans 6 cages, tandis que tous les autres se trouvaient séparés. Le modèle des cages du laboratoire permet de recueillir très convenablement les urines sans mélange avec les fèces.

Dans les cas où une cage renfermait 2 animaux, l'urine de 24 heures provenait évidemment des 2 lapins en expérience. Pour la facilité, nous procéderons comme si nous n'avions eu affaire qu'à 35 animaux (chaque couple étant considérée comme un seul sujet). Chez ces 35 sujets l'urine recueillie tous les matins a été analysée d'une manière systématique pendant un temps prolongé, de sorte que les résultats obtenus nous renseignent sur le symptôme diazoréaction pendant toute l'évolution de la tuberculose.

D'autre part, nous avons eu l'occasion d'examiner de temps en temps l'urine au point de vue de cette réaction, chez un nombre assez considérable de lapins tuberculeux servant à d'autres expérimentateurs du laboratoire; nous ne rapporterons pas ces essais, mais les résultats positifs ou négatifs qu'ils nous ont donnés, nous autorisent à être encore plus catégorique dans les conclusions que nous tirerons de l'histoire des 35 sujets du tableau I.

Les virus inoculés étaient des cultures pures de bacilles de tuberculose humaine, des émulsions de poumons tuberculeux, ou des crachats tuberculeux humains. L'injection a été pratiquée soit dans la veine marginale du pavillon de l'oreille, soit dans la cavité péritonéale.

Chez un assez grand nombre de ces animaux, il a été fait, au cours de l'évolution de la tuberculose, des injections de ce que nous désignons par le terme de « tuberculine »; celle-ci était préparée dans le laboratoire même, et sans prétendre qu'elle avait exactement la composition de la tuberculine de KOCH, elle devait au moins en posséder les propriétés caractéristiques.

Le tableau I montre également que plusieurs lapins avaient déjà succombé à l'inoculation, au moment où nos expériences ont cessé.

D'autres vivaient encore : la plupart de ceux-ci présentaient une diminution de poids. Quelques-uns avaient augmenté : ce sont généralement les animaux jeunes. Le nombre d'essais, c'est-à-dire d'analyses d'urines au point de vue de la diazoréaction, s'élève à 954.

Nous avons divisé les résultats de nos essais en positifs, négatifs et douteux, en nous basant sur la teinte de la mousse (voir planche). Dans les essais considérés comme positifs, la mousse était rose, mais nous avons hâte d'ajouter que cette mousse n'a pourtant jamais présenté la coloration carmin observée souvent chez l'homme tuberculeux, mais principalement les teintes 5 et 6 de la planche.

La teinte rose de la mousse se reconnaît le plus facilement, en comparant les mousses de différentes urines traitées simultanément.

Dans les essais dits négatifs, la mousse était orangé plus ou moins pâle (nos 7, 8 et 9 de la pl.), quelquefois orangé brunâtre, et lorsqu'à ces couleurs paraissait s'ajouter une certaine teinte rouge, nous avons considéré le résultat comme douteux. Il va de soi qu'on juge mieux des teintes au fur et à mesure qu'on acquiert plus d'expérience; c'est ainsi que nous avons été amené à un moment donné à classer parmi les résultats douteux, des colorations de mousse regardées auparavant par nous comme résultats négatifs.

Sur les 954 analyses rapportées ici, 65, soit 6,8 % ont donné une diazoréaction positive; 60 ou 6,2 %, une diazoréaction douteuse; 829 ou 86,8 %, une diazoréaction négative.

De là, nous concluons immédiatement que la diazoréaction est loin d'être constante dans l'urine des lapins tuberculeux. Elle ne peut donc être un moyen de diagnostic ou de pronostic d'une valeur absolue; en d'autres termes, une seule analyse d'urine au point de vue de la diazoréaction ne nous renseigne sûrement ni sur l'existence de la tuberculose, ni sur son évolution.

Considérons maintenant les résultats des analyses chez les animaux isolément.

Sur les 35 animaux tuberculeux (ou couples d'animaux) dont l'urine a été examinée fréquemment, 18 n'ont jamais présenté nettement la diazoréaction; par conséquent, dans 51 % des cas, l'urine des lapins tuberculeux ne donne à aucun moment cette coloration généralement considérée chez l'homme comme importante au point de vue du diagnostic et du pronostic.

Chez 17 sujets l'urine a montré la diazoréaction tantôt une seule fois, tantôt à plusieurs reprises; dans ce dernier cas, ce n'est qu'exceptionnelle-

TABLEAU I.

N°	DATES des inoculations	MODE d'inoculation	Nombre d'injections de tuberculine pratiquées au cours des observations	POIDS en gr. Avant les inoculations	POIDS en gr. A la fin des expériences	Augmentation	Diminution	Nombre d'essais	RÉSULTATS Positifs	RÉSULTATS Douteux	RÉSULTATS Négatifs	RÉSULTATS % Positifs	RÉSULTATS % Douteux	RÉSULTATS % Négatifs	REMARQUES
1	21 décembre 1900	Inj. intrav. cult. pure	5	2530	1683		847	21	0	0	21	0	0	100	Urines examinées du 13 févr. au 3 avril. Mort le 3 avril, (tubercul. pulm.).
2	id.	Inj. de 1 c.c. émulsion de cult. pure du 13 déc.	9	2350	2208		142	25	0	0	25	0	0	100	Urines examinées du 13 fév. au 26 avril et du 22 au 29 mai.
3	id.	Id.	7	2890	2031		859								
	26 février 1901	Inj. intrav. cult. du 18 janvier.						22	0	0	22	0	0	100	Urines examinées du 16 avril au 11 juin.
4	14 janvier 1901	Inj. intrav. cult. pure du 26 décembre.	10	2430	1810		620								
5	24 décembre 1900	Inj. intrav. cult. pure.	0	3190	2255		.935	63	0	1	62	0	1,5	98,4	Urines examinées du 18 mars au 11 juin.
	13 mars 1901	Inj. intrav. émuls. de poumon tuberc. de lapin.													
	8 mai	Inj. intrapérit. cult. pure.													
6	Mêmes dates	Mêmes inoculations.	0	3444	2080		1364	45	1	1	43	2,2	2,2	95,5	Urines examinées du 18 mars au 16 mai. Mort le 16 mai, (tuberc. miliaire débutante généralisée).
7	id.	Id.	0	3092	2654		438	65	2	1	62	3	1,5	95,3	Urines examinées du 13 mars au 11 juin.

8	28 janvier	Inj. intrav. 1 c.c. émuls. de cult. sur agar du 26 décembre 1900.	1	2300	2320	20		51	0	0	51	0	0	100	Urines examinées du 13 févr. au 11 juin.
9	id.	Id.	19	1951	1904		47								
10	id.	Id.	4	2116	1125		991	9	0	0	9	0	0	100	Urines examinées du 16 au 25 avril. Mort le 28 avril, (tubercul. pulm.).
11	7 février	Inj. intrav. de 1 c.c. émuls. de cult. pure.	15	1980	1940		40	54	0	0	54	0	0	100	Urines examinées du 14 févr. au 11 juin.
12	id.	Id.	13	2245	1768		477								
13	20 février	Inj. intrav. de 1 c.c. cult. pure.	0	2060	2490	430		29	0	2	27	0	6,8	93,1	Urines examinées du 12 au 26 mars, du 16 au 25 avril, du 29 mai au 11 juin.
14	id.	Id.	0	2197	1400		797	7	2	0	5	28,5	0	71,4	Urines examinées du 5 au 13 avril. Mort dans la nuit du 13 au 14 avril; à l'autopsie, pas de signes manifestes de tuberculose, ostéite du rocher, par suite d'otite purulente.
15	21 février	Inj. intrav. de 1 c.c. émuls. de cult. pure sur agar du 18 janvier.	1	2160	2155		5	48	0	0	48	0	0	100	Urines examinées du 9 mars au 11 juin.
16	id.	Id.	21	2050	1892		158								
17	26 février	Id.	15	2051	1893		168	37	1	2	34	2,7	5,4	91,8	Urines examinées du 25 mars au 11 juin.
18	id.	Id.	16	2046	1486		560								
19	id.	Id.	0	2817	2049		768	4	0	0	4	0	0	100	Urines examinées du 4 au 13 mars. Mort le 18 mars, (tuberculose pulmon.).

TABLEAU I (*Suite*).

N°	DATES des inoculations	MODE d'inoculation	Nombre d'injections de tuberculine pratiquées au cours des observations	POIDS en gr.		Augmentation	Diminution	Nombre d'essais	RÉSULTATS			RÉSULTATS %			REMARQUES
				Avant les inoculations	A la fin des expériences				Positifs	Douteux	Négatifs	Positifs	Douteux	Négatifs	
20	26 février	Inj. intrav. de 1 c.c. émuls. de cult. pure sur agar du 18 janvier.	1	1940	1297		643	3	0	0	3	0	0	100	Urines examinées du 22 au 25 mars. Mort le 25 mars, (granulie pulmonaire rouge).
21	13 mars	Inj. intrav. de 1 c.c. émuls. de poumon tuberc. de lapin.	3	2030	1607		423	10	8	2	0	80	20	0	Urines examinées du 31 mai au 11 juin.
22	id.	Id.	0	2111	2120	9		10	0	1	9	0	10	90	Urines examinées du 31 mai au 11 juin.
23	id.	Id.	13	2081	1870		211	35	14	6	15	40	17,1	42,8	Urines examinées du 19 avril au 11 juin.
24	27 mars	Inj. intrav. de 1/2 c.c. émuls. de poumon tuberc. humain (l'urine de ce malade donnait la diazoréaction).	0	2510	2172		338	38	1	3	34	2.6	7,8	89,4	Urines examinées du 29 mars au 23 mai.
25	id.	Inj. intrapérit. de 2 c.c. de la même émuls.	13	2018	1870		148	40	0	0	40	0	0	100	Id.
26	20 avril	Inj. intrap. émuls. de poumon tub. de cobaye infecté à l'aide de l'émuls. précéd.	7	1465	1560	95		15	10	2	3	66,6	13,3	20	Urines examinées du 24 mai au 11 juin.
27	25 avril	Inj. intrav. de 1 c.c. émuls. de crachats tub. d'un malade à diazor.	2	1778	1950	172		15	2	3	10	13,3	20	66,6	Urines examinées le 29 avril, et du 25 mai au 11 juin.
28	id.	Id.	6	1921	1708		213	32	0	1	31	0	3,1	96,8	Urines examinées du 30 avril au 11 juin.

29	25 avril	Inj. intrav. de 1 c.c. émuls. de crachats tub. d'un malade à diazor.	12	1006	1058	52		28	10	7	11	35,7	25	39,2	Urines examinées du 30 avril au 11 juin.
30	id.	Id.	5	1705	1780	75		32	2	3	27	6,2	9,3	84,3	Urines examinées du 26 avril au 11 juin.
31	id.	Inj. intrap. de la même émuls.	5	1450	1529	79									
32	8 mai	Inj. intrap. cult. pure.	0	2694	2320		374	22	0	1	21	0	4,5	95,4	Urines examinés du 9 mai au 7 juin. Mort le 7 juin, (tuberc. pulm.).
33	id.	Inj. intrav. cult. pure.	0	2282	1730		552	26	3	0	23	11,5	0	88,4	Urines examinées du 9 mai au 19 juin. Mort dans la nuit du 18 au 19 juin, (tuberc. mil. des deux poumons).
34	id.	Id.	0	2585	2604	19		24	0	0	24	0	0	100	Urines examinées du 9 mai au 11 juin.
35	id.	Id.	0	2848	2548		300	24	1	4	19	4,1	16,6	79,1	Id.
36	id.	Id.	0	2600	2347		253	24	0	3	21	0	12,5	87,5	Id.
37	id.	Id.	0	1960	1939		21	25	1	4	20	4	16	80	Id.
38	id.	Id.	0	2187	2235	48		26	4	10	12	15,3	38,4	46,1	Urines examinées du 13 mai an 11 juin.
39	id	Id.	0	2492	2013		479	5	0	1	4	0	20	80	Urines examinées du 13 au 20 mai. Mort dans la nuit du 19 au 20 mai, (tuberc. pulmon.).
40	id.	Id.	0	2264	2243		21	20	2	1	17	10	5	85	Urines examinées du 13 mai au 11 juin.
41	id.	Id.	0	2455	2292		163	20	1	1	18	5	5	90	Id.
							Totaux .	954	65	60	829				
							Moyennes o/o					6,8	6,28	86,8	

ment que la diazoréaction existait pendant plusieurs jours de suite, le plus souvent, elle s'est présentée par intervalles (voir tableaux II et V).

Chez 7 de nos sujets, nous avons obtenu à diverses reprises des résultats douteux sans aucun résultat positif, nous ne pouvons nous prononcer sur leur signification; un perfectionnement dans la technique ou dans la composition du réactif employé aurait peut-être permis de placer ces résultats douteux soit dans les positifs, soit dans les négatifs.

Voyons si l'injection de tuberculine a quelque influence sur la diazoréaction des lapins tuberculeux.

Chez 18 animaux auxquels il n'a pas été injecté de tuberculine, nous notons pour 10 d'entre eux, la diazoréaction positive (soit 55 %).

Les 17 autres sujets ont été tuberculinisés et parmi eux 7, soit 41 %, ont présenté la diazoréaction.

Par conséquent, l'injection de *petites doses* de tuberculine, n'augmente pas au moins le nombre des animaux tuberculeux à diazoréaction (un exemple nous en est fourni par le lapin 28, tableau IV). Chez les sujets présentant la diazoréaction avant l'injection de tuberculine, nous l'avons vue, à la suite de cette injection, tantôt disparaître, tantôt se maintenir (remarquer sur le tableau V les constatations faites chez le lapin 23); nous admettons donc que la réaction déterminée par la tuberculine n'a pas d'influence sur la diazoréaction.

KLIMMER et SCHMIDT(1), qui ont étudié la diazoréaction chez les bovidés tuberculeux, sont arrivés à des résultats analogues à ceux que nous venons de relater pour le lapin. Ces auteurs ont recherché s'il n'était pas possible, par l'injection de tuberculine, de provoquer la diazoréaction d'EHRLICH chez les bêtes tuberculeuses, et de déceler, par ce moyen, l'existence de la maladie. Ils ont examiné l'urine des animaux avant et après les injections de tuberculine; ils ont de plus divisé les bêtes suivant qu'elles réagissaient ou ne réagissaient pas à la tuberculine. Avant les injections, ils ont obtenu par rapport au nombre de sujets, avec l'urine des animaux réagissant à la tuberculine : 52 % de résultats positifs, 24 % de négatifs, 24 % de douteux; et avec les animaux ne réagissant pas : 62 % de positifs, 25 % de négatifs, 12 % de douteux. Après les injections, ils ont obtenu avec les bêtes qui réagissaient : 25 % de résultats

(1) KLIMMER und SCHMIDT : *Ueber die diagnostische Bedeutung der Ehrlich'schen Diazoreaktion bei der Tuberkulose der Rinder*. Archiv f. wissenschaftliche und praktische Thierheilkunde, 27. Band. 1. u. 2. Heft, 1901, S. 135.

TABLEAU II *(Lapin 33).*

DATE	Poids en gr.	Quantité d'urine en 24 heures	CARACTÈRES DE L'URINE	Diazoréaction + Positive ± Douteuse — Négative	OBSERVATIONS
7 mai 1901	2307	180 c.c.			
8 »	2282	190 »	Jaune brunâtre, trouble ; alcaline.		Injection intraveineuse de culture pure (1 c.c.)
9 »	2236	195 »	Jaune, assez limpide ; alcaline.	—	
10 »	2200	195 »	Jaune, peu trouble ; alcaline.	—	
11 »	2230	127 »	Jaune sale, trouble ; alcaline.	—	
13 »	2240	161 »	Jaune pâle, trouble ; alcaline.	—	
14 »	2280	133 »	Jaune sale, trouble ; alcaline.	—	
15 »	2252	187 »	Jaune orangeâtre, trouble ; alcaline.	—	
17 »	2200	220 »	Jaune sale, trouble ; alcaline.	—	
18 »	2215	130 »	Jaune sale, trouble ; alcaline.	—	
20 »	2247	173 »	Brunâtre, trouble ; alcaline.	—	
21 »	2240	161 »	Jaune brun, trouble ; alcaline.	—	
22 »	2194	170 »	Jaune sale, trouble ; alcaline.	—	
23 »	2200	178 »	Orangé brunâtre, trouble ; alcaline.	—	
24 »	2178	155 »	Jaune orangé sale, trouble ; alcaline.	—	
25 »	2212	115 »	Orangeâtre sale, trouble ; alcaline.	—	
28 »	2296	131 »	Jaune orangé, trouble ; alcaline.	—	
29 »	2176	165 »	Jaune sale, trouble ; alcaline.	—	
30 »	2184	150 »	Jaune orangé, trouble ; alcaline.	—	
31 »	2168	154 »	Orangé jaune, trouble ; alcaline.	—	
1r juin	2225	126 »	Jaune orangé, trouble ; alcaline.	—	
3 »	2102	205 »	Orangeâtre, trouble ; alcaline.	—	
4 »	2132	135 »	Jaune orangé, trouble ; alcaline.	—	
7 »	2000	160 »	Jaune sale, trouble ; jaune après filtration ; alcaline.	+	Urine légèrement albumineuse.
8 »	1993	162 »	Jaune orangeâtre, trouble ; alcaline.	—	
10 »	1937	112 »	Jaune sale, trouble ; jaune plutôt pâle après filtration ; alcaline.	+	
11 »	1960	157 »	Jaune orangé, trouble ; alcaline.	+	
19 »	1730	50 »	Jaune pâle, trouble ; alcaline.	—	Mort dans la nuit du 18 au 19. A l'autopsie : tuberculose des deux poumons.

TABLEAU III (*Lapin 32*).

DATE	POIDS en gr.	Diazoréaction + Positive ┼ Douteuse — Négative	OBSERVATIONS
7 mai 1901	2695		
8 »	2694		Inject. intrapérit. de 1 c.c. de culture pure.
9 »	2734	—	
10 »	2653	┼	
11 »	2560	—	
13 »	2615	—	
14 »	2608	—	
15 »	2600	—	
17 »	2600	—	
18 »	2619	—	
20 »	2610	—	
21 »	2684	—	
22 »	2700	—	
23 »	2700	—	
24 »	2730	—	
25 »	2734	—	
28 »	2758	—	
29 »	2658	—	
30 »	2586	—	
31 »	2547	—	
1r juin	2460	—	
3 »	2390	—	
4 »	2370	—	
7 »	2320	—	Mort pendant la nuit. A l'autopsie : *tuberculose pulmonaire*.

TABLEAU IV *(Lapin 28)*.

DATE	POIDS en gr.	INJECTION DE TUBERCULINE	Diazoréaction + Positive ± Douteuse — Négative	OBSERVATIONS
23 avril 1901	1921			
25 »				Injection intraveineuse de 1 c.c. d'émulsion de crachats tuberculeux d'un malade à diazoréaction.
29 »	1891	12 c.c. de filtrat simple de cult.		
30 »			—	
1r mai			±	
2 »	1720	5 c.c. de filtrat.	—	
3 »		5 c.c. de filtrat.		
4 »			—	
5 »	1768	5 c.c. de filtrat.	—	Urine brune, acide.
7 »			—	
8 »	1702	5 c.c. de filtrat.	—	Urine acide, très peu abondante, brune.
10 »			—	
11 »	1786		—	
13 »			—	
14 »	1750		—	
15 »			—	Urine brune, acide.
17 »	1759		—	
18 »			—	
20 »	1704		—	
21 »			—	
22 »	1680		—	
23 »	1697		—	
25 »	1657		—	
28 »	1641		—	
29 »	1677		—	
30 »	1668		—	
31 »	1680		—	
1r juin	1697		—	
3 »	1700		—	
4 »	1720		—	
5 »	1714		—	
6 »	1719	2 c.c. d'extrait éthéré de cult. dissous dans 12 c.c. d'eau à 4 heures.	—	
7 »	1680		—	
8 »	1683		—	
10 »	1690		—	
11 »	1718		—	

TABLEAU V (*Lapin 23*).

DATE	POIDS	CARACTÈRES DE L'URINE	Diazoréaction + Positive ± Douteuse — Négative	COLORATION du liquide après traitement par le réactif et l'ammoniaque	COLORATION de la mousse	PRÉCIPITÉ après 24 heures	OBSERVATIONS
9 mars 1901	2081						
13 »							Inj. intrav. de 1 c.c. émulsion de poumon tuberc. de lapin.
26 »	1925						Inj. 3 c.c. filtrat simple de cult. du 25 mars.
29 »	1720						Inj. 3 c.c. filtrat simple du 29 mars.
15 avril 1901	1764						Inj. 4 c.c. filtrat simple du 29 mars.
18 »	1640						Inj. 5 c.c. filtrat simple du 29 mars.
19 »	1560	Brun orangé, trouble alcaline.	—	Orangé jaunâtre sale.	Orangé pâle.	o	
21 »	1540						Inj. 12 c.c. filtrat simple du 20 avril.
22 »	1574	Brune, mêlée d'excréments; après filtrat. ambré foncé; alcaline; pas d'albumine.	—	Orangé brunâtre.	Orangé brunâtre pâle.	Brunâtre, très peu abondant.	
24 »	1550						Inj. 6 c.c. d'exprimat de cult.
27 »	1682	Brun orangé, trouble; alcaline.	±	Orangé rougeâtre.	Orangé rougeâtre? pâle.	Orangé brunâtre.	
29 »	1659	Brun orangé, trouble; jaune ambré après filtrat.; alcaline; pas d'albumine.	+	Orangé rougeâtre.	Rose pâle.	Jaunâtre pâle, très peu abondant.	Inj. 6 c.c. de filtrat.
30 »	1688	Brun foncé orangeâtre; brunâtre après filtrat. et pâlissant par l'acide acétique; pas d'albumine.	+	Orangé rougeâtre.	Rose pâle.	Rose sale.	

1er mai 1901	1700	Brun rougeâtre, trouble; ambré pâle après filtrat., pâlit par ac. acét.; pas d'albumine	+	Orangé rougeâtre.	Rose pâle.	o	Inj. 5 c.c. de filtrat.
2 »	1690	Brune, trouble; alcaline.	±	Orangé rougeâtre.	Orangé mêlé de rose?	Orangé brun.	idem.
3 »	1728						idem.
4 »	1680	Brune, épaisse; alcaline.	—	Orangée.	Orangé brun pâle.	o	
5 »	1736	Brun foncé, trouble; après filtrat., ambré foncé; pas d'albumine.	—	Orangée.	Orangée.	Orangé.	
7 »	1769	Orangé brunâtre, trouble; alcaline.	—	Orangée.	Brun pâle.	Brun, 2 mm.	
8 »	1761	Brun orangé; alcaline.	±	Orangé rougeâtre.	Orangé pâle avec rose?	Orange brun, peu abondant.	
9 »	1758	Brune, trouble; alcaline; pas d'albumine.	+	Orangé rouge, trouble.	Rose pâle sale.	Jaune brun.	
10 »	1786	Brune, trouble; alcaline.	+	Orangé rouge, brunâtre, trouble.	Rose pâle.	Brun orangé, 2 mm.	
11 »	1750	Brun orangé, trouble; alcaline.	+	Orangé rouge, trouble;	Rose pâle.	Orangé brunâtre pâle, 2 mm.	
12 »	1781						Inj. 10 c.c. de filtrat du 29 janvier (à froid).
13 »	1809	Jaune brun, trouble; alcaline.	±	Orangée	Orangé pâle avec rose?	Jaune brunâtre? peu abondant.	
14 »	1774	Brun jaunâtre, trouble; alcaline.	—	Orangée.	Orangé pâle.	Jaune sale, 2 mm.	Inj. 10 c.c. de filtrat du 29 janvier (à froid).
17 »	1785	Brun foncé, trouble; alcaline.	+	Orangé rouge.	Rose pâle.	Gris brun, 1 mm.	
18 »	1760	Orangé brun, trouble; alcaline; pas d'albumine.	+	Orangé rouge.	Rose pâle.	Brun? très peu abondant.	
20 »	1773	Brune, trouble; alcaline.	—	Orangé rougeâtre	Orangée.	Brun, peu abondant.	
21 »	1804	Orangé brun, un peu trouble.	±	Orangé un peu rougeâtre.	Orangé pâle mêlé de rose?	o	

TABLEAU V *(Suite)*.

DATE	POIDS	CARACTÈRES DE L'URINE	Diazoréaction + Positive ± Douteuse — Négative	COLORATION du liquide après traitement par le réactif et l'ammoniaque	COLORATION de la mousse	PRÉCIPITÉ après 24 heures	OBSERVATIONS
22 mai 1901	1780	Orangé brunâtre, trouble; alcaline.	—	Orangé un peu rougeâtre.	Orangé pâle.	Brunâtre très peu abondant.	
23 »	1796	Brune, trouble.	—	Orangé un peu rougeâtre.	Orangée.	Jaune orangé, 2 mm.	Inj. 2 c.c. extr. alcool. de cult.
25 »	1811	Orangé sale, trouble; alcaline.	—	Orangé rougeâtre.	Orangée.	Jaune sale, 2 mm.	
28 »	1802	Brun orangé, trouble; alcaline.	—	Orangé très légèrement rougeâtre.	Orangé pâle.	o	
30 »	1880	Brun verdâtre, trouble; alcaline.	±	Brun rouge.	Rose sale pâle.	o	Inj. 2 c.c. extr. alcool.
31 »	1907	Brune, trouble; alcaline.	—	Orangé brun, trouble.	Orangé pâle.	Jaunâtre pâle, peu abondant.	
1er juin 1901	1796	Brun orangé, trouble; alcaline.	—	Orangé brun, trouble.	Orangé pâle.	o	
3 »	1860	Brune, trouble; alcaline.	—	Brune.	Orangé pâle sale.	Brunâtre.	Inj. 10 c.c. extr. alcool.
4 »	1875	Jaune brun, trouble; alcaline.	+	Orangé rougeâtre.	Rose pâle.	o	
5 »	1890	Orangé brun, trouble, alcaline.	+	Orangé brun, trouble.	Rose pâle sale.	Brunâtre très peu abondant.	Inj. 2 c.c. extr. alcool.
6 »	1890	Orangé jaune sale, trouble.	+	Orangé rougeâtre.	Rose pâle.	Brunâtre très peu abondant.	
7 »	1872	Jaune, trouble; alcaline.	+	Orangé rougeâtre.	Rose pâle.	o	
8 »	1880	Orangé brunâtre, trouble; alcaline.	—	Orangée, trouble.	Orangé pâle.	Brunâtre peu abondant.	
10 »	1893	Ambrée, trouble; alcaline.	+	Orangé foncé, trouble.	Rose pâle.	»	
11 »	1870	Orangé jaune sale, trouble; alcaline.	+	Orangé rougeâtre, trouble.	Rose sale, très pâle.	Brunâtre très peu abondant.	

TABLEAU VI.

Nº	DIAZORÉACTION { + Positive, ± Douteuse, — Négative } Mois de mai																		Mois de juin					OBSERVATIONS
	9	10	11	13	14	15	17	18	20	21	22	23	24	25	28	29	30	31	1er	3	4	6	7	
32	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	Mort le 7 juin.
33	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	—		+	
34	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—		—	
35	±	±	—	±	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—		—	
36	±	±	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—		—	
37	±	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	±	—		—	
38	±	+	± +	—	±	±	±	—	—	±	—	±	±	±	—	—	±		—	+	—	+	—	Urines examinées 2 fois le 11 mai.
39				—		—	—	—	±															Mort dans la nuit du 19 au 20 mai.
40				—		—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—		—	±	—		—	
41				—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	±	—		—	

positifs. 29 % de négatifs, 46 % de douteux; et chez les bêtes qui ne réagissaient pas : 43 % de positifs, 43 % de négatifs, 14 % de douteux. Ils en concluent que ce procédé n'a pas de valeur pour déceler la tuberculose chez les bovidés.

L'influence de l'injection de tuberculine sur la diazoréaction a été peu étudiée chez l'homme tuberculeux. BECK(1) n'a pas vu apparaître la diazoréaction après injection de tuberculine. — Par contre FEER(2) qui pratiqua des injections à 17 enfants atteints de tuberculose osseuse, articulaire ou ganglionnaire, et dont 2 seulement présentaient la diazoréaction avant l'injection, dit l'avoir vue apparaître après celle-ci chez 14 d'entre eux. Si telle est bien réellement l'influence de la tuberculine sur la diazoréaction chez l'homme, les expériences de KLIMMER et SCHMIDT sur les bovidés, et les nôtres sur les lapins, démontrent qu'il n'en est pas ainsi chez ces animaux.

L'apparition de la diazoréaction est-elle en un rapport quelconque avec l'évolution de la tuberculose? En d'autres mots, permet-elle de prévoir quelle sera la marche de celle-ci (valeur pronostique de la diazoréaction)?

9 de nos animaux sont morts à l'heure actuelle; 8 ont succombé manifestement à la tuberculose, comme l'a démontré l'autopsie. Or, 2 seulement parmi ces 8 animaux ont présenté la diazoréaction d'une manière nette, le lapin nº 6, 1 fois sur 45 analyses, le lapin 33, 3 fois sur 26 analyses, tandis que les 6 autres n'ont jamais émis d'urine dont la mousse devenait nettement rose (exemple : le lapin 32, tableau III).

Considérons encore à ce point de vue les lapins 32 à 41 qui ont été inoculés le même jour avec la même émulsion de culture pure (tableau VI); le 7 juin, 2 d'entre eux avaient déjà succombé tout en n'ayant chacun présenté qu'une fois une réaction douteuse (32 et 39), tandis que 4 autres, 33, 35, 38 et 40, avaient montré la diazoréaction positive et vivaient encore.

Ajoutons enfin que les animaux ayant donné nettement la réaction positive, on les voit survivre encore après des mois; la diazoréaction peut donc exister en cas de tuberculose très chronique, peut-être même dans celle qui finit par se guérir.

En résumé, la diazoréaction n'est pas la règle dans la tuber-

---

(1) M. BECK : *Ueber die prognostische Bedeutung der Diazoreaktion bei Phthisikern.* Charité Annalen, XIX, S. 583.

(2) E. FEER : *Auftreten von Diazoreaktion im Urin von mit Koch'scher Lymphe behandelten tuberkulösen Kindern.* Jahrbuch f. Kinderheilk., 1892, 33. Bd., S. 281.

culose à marche aiguë, nous pourrions même dire qu'elle y est moins fréquente que dans la tuberculose considérée en général, puisque chez les 8 lapins ayant succombé rapidement elle a existé seulement dans 25 % des cas, tandis que dans le chiffre global de nos expériences, nous l'avons observée dans 48 % des cas.

La diazoréaction chez le lapin, loin d'être de mauvais augure, serait donc plutôt un signe favorable.

IV. — Des facteurs agissant sur la diazoréaction dans la tuberculose.

Plusieurs théories ont été émises au sujet de la cause amenant la diazoréaction. Pour GEISLER (1) elle est la conséquence d'une leucocytolyse : les substances dont la présence est constatée dans l'urine par l'épreuve d'EHRLICH n'existeraient pas comme telles dans le sang ; elles se constitueraient lors du passage à travers le rein des produits résultant de la dissolution des leucocytes. Pour CLEMENS, il s'agirait de matières anormales formées par suite de la destruction des albuminoïdes. D'autres admettent la résorption de produits de putréfaction pulmonaire.

Actuellement, on semble se rallier surtout à deux théories : ou bien la diazoréaction serait en rapport avec une infection mixte ou bien elle serait due à l'effet de la toxine tuberculeuse sur l'organisme : BURGHART, notamment, prétend que l'injection de tuberculine chez le lapin normal détermine une diazoréaction intense. Nous y reviendrons plus loin.

Nous avons entrepris un certain nombre de recherches en nous laissant guider par ces diverses hypothèses.

Disons d'abord qu'une culture de bacilles de KOCH sur bouillon glycériné donne un filtrat qui, comme tel, après concentration ou addition d'un volume égal d'urine, ne donne pas la diazoréaction. Dans la dite tuberculine ne préexiste donc pas la substance chromogène de la diazoréaction.

D'autre part, les animaux 32 à 41 (tableau VI) ont été inoculés par une culture pure, et le lapin 38 élimina déjà 24 heures après l'injection une urine à diazoréaction positive ; or, l'état du sujet à ce moment, ainsi que la suite de l'observation, nous autorisent certainement à admettre qu'il n'y a pas eu d'infection mixte ; nous en concluons que la diazoréaction n'est pas due nécessairement à une infection secondaire, mais qu'elle peut être l'effet du bacille tuberculeux lui-même ou de la toxine qu'il secrète dans l'organisme.

---

(1) TH. GEISLER : *Zur Frage über das Wesen der Diazoreaktion*. Wratch, 1898, Nr 9 ; Sanct-Petersburger medic. Wochenschr., 1898, Beilage, S. 33.

Nous avons vu plus haut (tableau I) dans quelle proportion l'infection tuberculeuse provoque la diazoréaction ; nous n'y reviendrons pas.

Nous avons recherché d'autre part si l'injection répétée de doses élevées de tuberculine à un lapin non tuberculeux pouvait déterminer la diazoréaction.

Voici une expérience où nous avons employé un filtrat concentré analogue à la tuberculine de KOCH et préparé le 10 janvier 1901 :

Lapin normal de 1480 gr.

DATE ET HEURE	QUANTITÉ d'urine émise	Diazoréaction + Positive ± Douteuse — Négative	OBSERVATIONS
20 mai, 4 h. 45'			Inj. hypod. de 1 c.c. 5 de tuberculine.
21 » 4 h.	55 c.c.	—	
22 » 9 h.	40 c.c.	—	
— » 5 h.			Inj. hypod. de 1 c.c. de tuberculine.
23 » 9 h.	120 c.c.	—	
24 »	120 c.c.	—	
— » 3 h. 45'			id.
25 » 9 h. 30	62 c.c.	±	
— » 4 h.	19 c.c.	+	Diazoréaction peu intense.
— » 4 h. 15'			Inj. hypod. de 1 c.c. de tuberculine.
26 »	60 c.c.	±	
27 »	180 c.c.	—	
— » 8 h. 45'			id.
28 » 10 h. 30'	155 c.c.	—	
— » 3 h. 15'			id.
— » 5 h.			id.
— » 5 h. 30'	80 c.c.	—	
29 » 9 h.	40 c.c.	—	
— » 10 h. 20'			id.
— » 2 h.	20 c.c.	±	
— » 2 h. 50'			id.
— » 5 h.			id.
30 » 10 h.	30 c.c.	—	
— » 3 h.	35 c.c.	+	Inj. hypod. de 4 c.c. de tuberculine.
31 » 10 h. 30'	13 c.c.	—	
— » 2 h. 30'	12 c.c.	—	Urine acide.
1 juin 8 h.	15 c.c.	—	Urine acide.
— » 3 h.		—	Urine acide. Diarrhée.

Il en résulte que les fortes doses de tuberculine peuvent provoquer la diazoréaction chez les lapins normaux, tandis que les petites doses sont

sans influence chez les animaux normaux comme chez les animaux tuberculeux.

En présence de l'irrégularité et de l'inconstance de la diazoréaction chez le lapin tuberculeux, nous nous sommes demandé si la substance donnant la réaction d'EHRLICH n'était pas facilement détruite dans l'organisme de cet animal. A cet effet, nous avons injecté sous la peau à un lapin normal et à un lapin tuberculeux qui n'avait jusque-là jamais présenté la diazoréaction, une urine humaine à diazoréaction intense provenant d'un tuberculeux. Après injection de cette urine humaine comme telle, le résultat a été négatif avec le lapin normal, douteux avec le sujet tuberculeux, ainsi que le démontrent les deux expériences suivantes :

1re Expérience : Lapin normal de 2105 gr.

DATE ET HEURE	QUANTITÉ d'urine émise	Diazoréaction + Positive ± Douteuse — Négative	OBSERVATIONS
23 avril, 10 h. 45′			Inj. hypod. de 30 c.c. d'urine hum. à diazor.
— » 10 h. 55′	30 c.c.	—	
— » 5 h.	57 c.c.	—	
24 » 11 h.		—	

2e Expérience : Lapin tuberculeux de 2370 gr.

DATE ET HEURE	QUANTITÉ d'urine émise	Diazoréaction + Positive ± Douteuse — Négative	OBSERVATIONS
23 avril, 10 h. 45′			Inj. hypod. de 20 c.c. d'urine hum. à diazor.
— » 12 h.	45 c.c.	±	
24 » —		±	
25 » —		—	

Nous avons ensuite concentré notablement cette urine, afin d'injecter sous un petit volume une quantité assez grande de substance chromogène sans déterminer en même temps une diurèse abondante. Dans ces conditions nous avons obtenu manifestement un résultat positif tant chez le lapin normal que chez le lapin tuberculeux, ainsi que le démontrent les trois expériences ci-après :

1re Expérience : Lapin normal de 2331 gr.

DATE ET HEURE	QUANTITÉ d'urine émise	Diazoréaction + Positive ± Douteuse — Négative	OBSERVATIONS
3 mai, 5 h. 15'			Inj. hypod. de 15 c.c. provenant de la concentration de 100 c.c. d'urine hum. à diazor.
— » 5 h. 20'	28 c.c.	—	
— » 5 h. 45'			id.
— » 6 h. 10'	16 c.c.	+	Urine donnant un liquide orangé, mais une mousse rose pâle.
4 » 8 h. 30'	140 c.c.	+	
— » 9 h.	12 c.c.	±	Urine acide.
— » 10 h. 30'	10 c.c.	±	id.
— » 3 h. 50'	20 c.c.	±	id.
5 » 8 h. m.	43 c.c.	—	

2e Expérience : Lapin tuberculeux de 2304 gr.

DATE ET HEURE	QUANTITÉ d'urine émise	Diazoréaction + Positive ± Douteuse — Négative	OBSERVATIONS
25 avril, 10 h.			Inj. hypod. de 30 c.c. provenant de la concentrat. de 200 c.c. d'urine hum. à diazor.
— » 12 h.	60 c.c.	±	
— » 3 h.	40 c.c.	+	
26 » 8 h. m.	85 c.c.	±	
27 »		—	

3e Expérience : Même lapin tuberculeux (poids 2242 gr.).

DATE ET HEURE	QUANTITÉ d'urine émise	Diazoréaction + Positive ± Douteuse — Négative	OBSERVATIONS
9 mai, 4 h. 15'			Inj. hypod. de 30 c.c. provenant de la concentrat. de 200 c.c. d'urine hum. à diazor.
— » 4 h. 20'	20 c.c.	—	
10 » 9 h.	105 c.c.	+	
— » 3 h. 30'	25 c.c.	±	
11 » 3 h.	32 c.c.	—	

Par conséquent, la substance chromogène, qui dans l'urine humaine donne la diazoréaction, n'est pas détruite pendant son passage à travers l'organisme du lapin et s'élimine en quantité sensible avec les urines, mais

cette élimination se fait assez rapidement, puisque en général, après 24 heures, la diazoréaction n'est plus positive.

Cette matière chromogène qui ne se trouve qu'anormalement dans l'urine, semble se concentrer dans ce liquide, au même titre que les éléments normaux de l'urine tels que urée, sels, etc. En effet, nous avons examiné à ce point de vue l'épanchement pleural du tuberculeux, dont il a été question au chapitre II et qui éliminait régulièrement une urine à diazoréaction très intense; or le sérum de cet épanchement ne présentait aucune trace de diazoréaction. D'autre part les selles de ce malade délayées dans l'eau donnaient un filtrat ne montrant pas davantage la diazoréaction. L'examen des crachats ne nous a rien fourni non plus. Chez un malade mort de tuberculose pulmonaire et dont l'urine possédait la diazoréaction à un haut degré, nous avons prélevé une certaine quantité de sang et un fragment de poumon infiltré et purulent : les extraits aqueux du sang et du poumon ne présentaient pas non plus la diazoréaction. Nous concluons au moins du résultat négatif de ces essais que la substance chromogène, si elle existe dans ces différentes matières, s'y trouve en quantité trop minime pour être décelée à l'aide du réactif employé par nous et par la plupart des auteurs pour la recherche de la diazoréaction dans l'urine.

Cette substance chromogène se forme-t-elle au moment de la sécrétion urinaire, comme le prétend GEISLER? C'est là une question non résolue par nos expériences. Mais celles-ci prouvent, nous semble-t-il, que la diazoréaction ne résulte point de la résorption de produits de putréfaction pulmonaire.

Comme d'autre part, nous n'avons pas vu apparaitre chez le lapin normal, à la suite de l'injection de fortes doses de tuberculine, une diazoréaction intense ainsi que le prétend BURGHART, mais au contraire une diazoréaction peu nette et inconstante (une autre expérience du même genre que celle que nous avons exposée plus haut, mais où nous avons employé un filtrat simple à froid de culture récente de bacilles de KOCH, et au cours de laquelle l'animal intoxiqué finit par succomber, ne nous a même fourni aucun essai à résultat positif), nous pensons que la toxine tuberculeuse seule ne suffit pas pour provoquer une diazoréaction prononcée; celle-ci paraît donc exiger, en plus, certaines conditions qui sont encore inconnues.

Les conclusions de nos expériences peuvent se résumer ainsi :

I. Chez le lapin rendu tuberculeux par injection d'une culture pure de bacilles de tuberculose humaine ou de produits tuberculeux, la diazoréaction

est très inconstante et très intermittente; au point de vue du diagnostic comme au point de vue du pronostic, elle n'a absolument aucune valeur.

Le lapin tuberculeux se comporte donc comme le bœuf (recherches de Klimmer et Schmidt).

II. — La tuberculine peut provoquer la diazoréaction chez les lapins normaux, mais à doses fortes seulement.

III. — La substance donnant lieu à la diazoréaction dans l'urine humaine provoque, après injection hypodermique d'une quantité suffisante chez les lapins normaux, la diazoréaction dans l'urine émise pendant les 24 heures qui suivent.

IV. Le sang, les crachats, les extraits pulmonaires des phtisiques dont l'urine présente la diazoréaction, ne donnent aucune coloration rose avec le réactif d'Ehrlich et l'ammoniaque.

Juin 1901.

Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Montpellier.

Sur l'hémolyse par les glycosides globulicides et les conditions de milieu qui la favorisent ou l'empêchent (2e mémoire).

PAR

E. HÉDON.

Depuis mon premier mémoire sur cette question(1), j'ai fait quelques autres recherches qui m'amènent à compléter et à modifier sur certains points les notions déjà exposées. D'autre part, les critiques que M. Pohl(2) adresse à M. Bashford(3) relativement à l'action antihémolysante des acides libres contre la solanine, retombent en partie sur moi, puisque les expériences de M. Bashford, sur ce point spécial, n'étaient que la confirmation des miennes(4). M. Pohl, du reste, m'attaquant directement, déclare inexactes certaines de mes observations. Je voudrais donc aussi, en revenant sur ce sujet, tâcher d'expliquer nos divergences.

I. — Manière dont les globules rouges se comportent vis-a-vis des acides et des alcalis et modifications de résistance que leur impriment ces agents a l'égard de la solanine(5).

L'acidité du milieu est un obstacle à l'hémolyse par la solanine; l'alcalinité est au contraire une condition adjuvante de l'hémolyse. L'action

(1) Arch. intern. de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. VIII, p. 381.

(2) *Ueber Blutimmunität*, ibid., vol. VIII, p. 437.

(3) Ibid., vol. VIII, p. 101.

(4) Comptes rendus de la Société de Biologie, août 1900.

(5) C.-R. Acad. des Sciences, juillet 1901.

antihémolytique du phosphate ou du sulfate acide de sodium n'a rien de spécifique. Tous les acides libres, toutes les substances acides (comme glycocolle, asparagine, par exemple), ont la même action; le phosphate acide de soude a seulement un pouvoir protecteur pour les globules beaucoup plus accentué que les acides libres. Le mécanisme de cette action protectrice repose sur l'affinité des globules pour les acides; dans les solutions acides, les globules s'emparent de tout l'acide, et si ce dernier est en quantité suffisante pour que chaque globule en prenne une quantité déterminée, le stroma de l'hématie est modifié de telle sorte qu'il devient imperméable à la solanine, pour des doses de ce poison qui dépassent notablement la limite toxique en milieu neutre. De même, l'action favorisante qu'exercent les substances alcalines sur l'hémolyse, repose sur l'affinité des globules pour les alcalis. Le stroma globulaire est modifié par l'alcali qu'il fixe de manière à devenir plus facilement perméable à la solanine.

Rien de plus facile que de mettre en évidence l'action protectrice qu'exerce un acide libre, comme HCl, sur les globules contre la solanine; il suffit que la quantité d'acide soit dans un certain rapport avec la quantité de globules employée.

On prépare une solution de chlorhydrate de solanine. Pour cela on ajoute avec précaution à la solanine la quantité d'HCl (en solution NaCl physiologique) juste suffisante pour la dissoudre, et on étend ensuite avec de l'eau salée, de manière à obtenir une solution de poison à 0,1 °/₀ (1). Cela fait, on recherche quelle est la solution limite toxique pour trois gouttes de sang de bœuf dans 10 c.c. de liquide. Or, on constate qu'il suffit d'ajouter 0,1 c.c. de la solution toxique à 10 c.c. d'eau salée physiologique pour laquer très rapidement trois gouttes de sang. La limite toxique étant ainsi déterminée, on dépose dans une série de tubes des quantités croissantes de solution toxique, depuis 0,1 c.c. jusqu'à 3 c.c.; on ajoute ensuite dans chaque tube 1 c.c. d'une solution HCl à 0,365 °/₀, et enfin le complément en eau salée pour faire 10 c.c. Trois gouttes de sang étant alors immergées dans chaque tube et mélangées aux solutions, on constate que dans les premiers tubes à 0,1 c.c.—0,2 c.c.... 0,6 c.c. de solanine, l'hémolyse ne se produit pas, que les globules s'y déposent

(1) J'ai aussi employé un chlorhydrate de solanine du commerce (livré par Schuchardt); mais il devait être impur. Ses solutions étaient en effet colorées en jaune, et son action hémolytique et toxique se montrait notablement plus faible que celle de la solanine pure dissoute par HCl.

inaltérés, et qu'un laquage accentué et rapide ne commence que dans le tube contenant 2 c.c. de la solution toxique.

Dans ce cas l'acide protégeait les globules contre 6 à 7 fois la dose toxique. Avec des globules de lapin j'ai vu aussi qu'une dose de 1,5 c.c. d'HCl centi-normal pour 10 c.c. de solution protégeait cinq gouttes de sang contre quatre à cinq fois la dose toxique. Mais, fait essentiel, si toutes les conditions de l'expérience restant les mêmes, on employait une quantité de sang plus forte, soit quinze gouttes, le laquage était immédiat et complet pour tous les globules dans les solutions contenant une dose non hémolytique pour cinq gouttes, soit dans le tube renfermant 0,6 c.c. de solanine. La quantité d'acide qui est protectrice pour cinq gouttes ne l'est donc plus pour une quantité trois fois plus grande. Cela tient à ce que dans les solutions acides, les globules se partagent l'acide, et lorsque leur nombre est trop grand par rapport à la quantité absolue d'acide, chacun d'eux n'est pas suffisamment imprégné pour résister au toxique.

Les acides étant eux-mêmes toxiques pour les globules, et capables de déterminer à eux seuls l'hémolyse, lorsqu'ils se trouvent en trop forte proportion dans le milieu, il convient de préciser les doses que les globules peuvent supporter sans dommage. Or, à ce point de vue, ce n'est pas tant la dilution de l'acide qui importe que sa quantité absolue, et le rapport de cette quantité avec la quantité des globules. Un même volume d'une solution très diluée d'HCl exercera une action très différente sur les globules, suivant le nombre de ceux-ci ; de même des volumes différents d'une même solution acide pour une égale quantité de sang, exerceront une action toxique d'intensité différente. Dans une série de tubes déposons trois gouttes de sang de bœuf ; puis, ajoutons dans le premier 10 c.c. d'une solution d'HCl milli-normale (dans l'eau salée) ; dans le second 20 c.c. de la même solution ; dans le troisième 25 c.c., etc. Au bout d'une douzaine d'heures nous constatons que dans le premier tube les globules se sont déposés sans altération de couleur, ni diffusion d'hémoglobine ; que dans le second ils se sont moins bien déposés et ont pris une coloration un peu brunâtre ; et que dans le troisième ils sont devenus bruns et ont laissé diffuser une partie de leur matière colorante. D'autre part, si dans 10 c.c. de la même solution acide on ajoute seulement une goutte de sang au lieu de trois, on observe aussi l'altération globulaire. Par conséquent, dans une solution milli-normale d'acide chlorhydrique, pour que les globules restent inaltérés, la proportion convenable de sang est au minimum de trois gouttes pour 10 c.c. de solution. On conçoit d'après cela que dans les solutions acides encore plus diluées, l'hémolyse se produira si le volume

de la solution, c'est-à-dire, la quantité absolue d'acide est trop grande par rapport à la masse globulaire. Inversement, on peut, à une masse suffisante de sang, ajouter des solutions acides relativement concentrées sans produire d'altération globulaire, pourvu que la solution acide soit ajoutée avec précaution et graduellement, en agitant continuellement le mélange, de manière que l'acide se répartisse également entre chaque globule. Par exemple, du sang de bœuf est débarrassé de son sérum par centrifugation et les globules sont lavés deux fois à l'eau salée (à 9 ‰); après la dernière centrifugation, le dépôt globulaire occupe 20 c.c. au fond de l'éprouvette; on décante l'eau de lavage, et on la remplace par 80 c.c. d'acide chlorhydrique centi-normal (en solution NaCl), que l'on ajoute goutte à goutte à la purée globulaire, en agitant constamment le mélange. Cela fait, on centrifuge de nouveau. On constate alors que le liquide surnageant est absolument incolore, et de plus, fait essentiel, qu'il a perdu toute acidité. En ajoutant à un même volume de globules lavés une quantité d'acide supérieure à celle qui vient d'être indiquée, les globules s'emparent encore de tout l'acide, mais ils prennent une teinte brunâtre; enfin, si l'on augmente encore la quantité d'acide, l'hémoglobine diffuse dans le milieu, et on constate que ce dernier a conservé une partie de son acidité. Dans les solutions acides, les globules s'emparent donc de tout l'acide, et ils ne commencent à subir l'hémolyse que lorsqu'il reste dans le milieu une certaine quantité d'acide qu'ils ne peuvent fixer, c'est-à-dire lorsque leur capacité d'absorption pour l'acide est dépassée. On conçoit, d'après cela, que l'on puisse traiter des émulsions de globules dans l'eau salée par des solutions acides encore plus concentrées, sans les détruire; il suffit d'opérer le mélange avec lenteur et d'ajouter l'acide aux globules, et non les globules à l'acide. Ainsi, à 6 c.c. de sang de lapin lavés à l'eau salée, si l'on ajoute avec précaution 1 c.c. d'HCl déci-normal (en solution NaCl), les globules ne sont nullement altérés et, après leur dépôt, le liquide surnageant est parfaitement incolore et neutre.

Les globules se comportent de la même façon vis-à-vis de tous les acides, et des solutions de différents acides équivalentes en acidité peuvent être ajoutées en même proportion à une même masse globulaire. Ainsi à 20 c.c. d'un dépôt de globules lavés à l'eau salée, on peut ajouter 80 c.c. d'une solution d'acide sulfurique centi-normale, ou 80 c.c. d'une solution d'acide citrique à 0,7 ‰ ou d'acide oxalique à 0,63 ‰ etc.(1). Pour le

(1) Il y a cependant de légères différences entre les acides au point de vue de leur nocivité pour les globules; il y a aussi des différences de sensibilité aux acides entre les

phosphate acide de sodium, on constate également qu'il se fixe sur les globules, mais, de plus, qu'il est bien moins nocif que les acides libres; car la présence dans le milieu d'un grand excès de ce sel que les globules ne peuvent fixer n'amène pas l'hémolyse : les globules prennent seulement une coloration brunâtre(1).

Une fois que les globules se sont emparés de l'acide des solutions où ils ont été immergés, ils peuvent être lavés indéfiniment à l'eau salée sans perdre une quantité appréciable de l'acide qu'ils ont fixé. C'est là un fait très facile à vérifier, lorsqu'on opère sur une grande masse de globules imprégnés par un acide, de manière que la moindre diffusion se traduise par une acidité notable de l'eau de lavage. Lorsque, par exemple, 20 c.c. d'un dépôt de globules de bœuf lavés à l'eau salée, ont absorbé tout l'acide de 80 c.c. d'acide chlorhydrique centi-normal, si on les laisse dans ce milieu, ou si on les transporte dans un nouveau milieu neutre, le liquide, même après plusieurs heures, n'offre aucune réaction acide.

Ces faits étant établis, voici maintenant ce qui en résulte au point de vue de l'hémolyse par la solanine. Tous les acides quels qu'ils soient, par le fait même qu'ils se fixent sur le globule, sont un obstacle à l'hémolyse par la solanine. Il suffit pour s'en convaincre de déposer une quantité convenable de globules dans un volume déterminé de différentes solutions acides équivalentes en acidité, et contenant une ou plusieurs doses de solanine hémolytiques en milieu neutre. Par exemple, d'une solution de sulfate de solanine à 0,1 °/o il suffit d'ajouter 0,4 c.c. à 10 c.c. d'eau salée pour provoquer l'hémolyse presque instantanée de cinq gouttes de sang de bœuf. Déposons maintenant dans une série de tubes 2 c.c. de la solution de solanine (5 fois la dose toxique); introduisons ensuite dans chaque tube 1 c.c. de solutions de différents acides équivalentes en acidité à 1 c.c. d'acide chlorhydrique centi-normal : soit 1 c.c. d'acide citrique à 0,7 °/oo, 1 c.c. d'acide lactique à 0,94 °/oo, 1 c.c. d'acide tartrique à 0,75 °/oo, 1 c.c. d'acide oxalique à 0,63 °/oo, 1 c.c. d'acide succinique à 0,59 °/oo, 1 c.c. d'acide salicylique à 1,38 °/oo, 1 c.c. d'acide benzoïque à 1,22 °/oo;

globules des diverses espèces animales. Mais je n'insiste pas sur ces faits de détail qui ne sauraient infirmer les phénomènes généraux exposés ici.

(1) Telle est la façon dont les globules se comportent au contact des acides, en *solutions salines*. Je mentionnerai seulement ici qu'en solutions isotoniques de corps *non électrolytes*, comme les sucres, les acides produisent de plus le phénomène de l'agglutination des globules, et qu'une certaine proportion d'un sel dans le milieu suffit pour empêcher cette agglutination. Pour plus de détails, je renvoie à ma note sur ce sujet publiée dans les Comptes rendus de l'Académie des Sciences (août 1900).

ajoutons partout le complément en eau salée pour faire 10 c.c., et mélangeons alors dans chaque tube cinq gouttes de sang de bœuf. Au bout de 24 heures nous constatons que les globules se sont déposés dans tous les tubes et que le liquide surnageant présente seulement une légère teinte rosée. L'acide carbonique possède aussi cette action antitoxique : dans de l'eau salée tenant en dissolution une certaine quantité de CO_2, les globules sont notablement plus résistants à la solanine qu'en milieu neutre.

Ces expériences montrent bien que tous les acides jouissent de la même propriété protectrice. Il en est de même des amines acides, glycocolle et asparagine, ainsi que je l'ai indiqué dans mon précédent mémoire. M. Pohl considère cela comme *inexact,* d'après des expériences qu'il a faites avec des solutions à 1 °/o de ces substances. Ici encore la contradiction provient sans doute de ce que cet expérimentateur n'a pas dû employer une quantité suffisante de ces substances acides pour la quantité de globules mise en œuvre. Il suffit d'ailleurs de se reporter à mon mémoire pour les conditions de l'expérience; je n'y reviens pas. La seule concession que je doive faire à M. Pohl, c'est que ni les acides libres, ni les amines acides n'ont un pouvoir protecteur aussi marqué et aussi complet que les sels acides, et en particulier que le phosphate acide de sodium. Mais il n'y a là qu'une question de degré, et le mécanisme de la protection est le même dans tous les cas. C'est en fixant l'acide que les globules acquièrent l'immunité contre la solanine. Modifié par l'acide, le stroma globulaire devient impénétrable à la solanine (jusqu'à une certaine concentration du toxique dans le milieu). J'en ai donné la preuve dans mon dernier mémoire; voici encore une expérience qui me paraît décisive sur ce point. 20 c.c. d'un dépôt de globules de bœuf lavés à l'eau salée furent additionnés de 80 c.c. d'une solution de phosphate acide de soude à 1 °/o (en solution NaCl, car ce sel acide ne fournit pas à lui seul de solutions isotoniques, en raison de sa pénétration dans les globules). Après centrifugation, on constata qu'une partie du phosphate acide s'était fixée sur les globules, mais qu'il en restait encore en solution; on lava alors les globules plusieurs fois à l'eau salée, de manière à éliminer complètement toute trace d'acidité du milieu. La masse globulaire fut alors immergée dans une solution de solanine représentant la *limite toxique* pour des globules normaux. Il était à présumer que si les globules impressionnés par le phosphate acide de soude prenaient la moindre quantité de solanine à la solution, celle-ci devait devenir hypotoxique pour des globules neufs. Or, après centrifugation on constata que la solution de solanine n'avait rien

perdu de sa toxicité; d'où il suit que les globules immunisés par le phosphate acide de sodium étaient devenus absolument imperméables à la solanine.

Telle est donc la raison de l'immunité des globules, traités par un acide, contre la solanine. Ils ont perdu de leur affinité pour ce poison. Ce n'est donc pas l'acidité du milieu qui intervient; car le milieu lui-même perd toute acidité, par la présence des globules. Quand on immerge des globules dans une solution toxique de solanine additionnée d'une proportion convenable d'acide, les globules en raison de leur affinité considérable pour l'acide, s'emparent instantanément de celui-ci, et la solanine reste alors dans le milieu, impuissante à pénétrer dans les hématies.

L'action inverse des alcalis qui sensibilisent les globules pour la solanine, repose sur le même principe. Dans les solutions alcalines, les globules fixent l'alcali sur leur substance, comme ils fixent les acides dans les solutions acides. Je dois rectifier ici une assertion erronée de mon premier mémoire. Je disais que les globules qui avaient fixé une certaine proportion d'alcali après immersion dans une solution de soude, perdaient leur alcali par des lavages à l'eau salée. Mais de nouvelles expériences m'ont démontré que les globules retiennent en réalité avec une grande énergie la soude qu'ils ont fixée. Par exemple, si à 30 c.c. de sang de bœuf lavés à l'eau salée, on ajoute 50 c.c. de soude centi-normale (dans l'eau salée), par petites portions, en agitant constamment le mélange, après centrifugation le liquide surnageant est parfaitement incolore et neutre; et on peut laver ensuite les globules à l'eau salée, ils ne cèdent pas une quantité appréciable d'alcali. De même, si à 6 c.c. de sang de lapin lavé on ajoute 10 c.c. d'une solution de soude centi-normale, le liquide après dépôt des globules est incolore et neutre. On peut même ajouter à 6 c.c. de sang de lapin 1 c.c. de soude déci-normale sans détruire une quantité notable de globules. Or, les globules impressionnés par la soude, et lavés ensuite à l'eau salée, gardent leur sensibilité plus grande à la solanine, car ils se détruisent dans des solutions de ce poison hypotoxiques pour des globules neufs. Sommation d'actions toxiques, dit M. Pohl; soit, car on peut interpréter de cette façon l'action d'une substance sensibilisatrice. Cependant, dans des solutions alcalines qui n'ont aucune action toxique appréciable pour les globules, comme les solutions isotoniques de citrate de soude, les globules se détruisent pour des doses de solanine qui sont insuffisantes dans l'eau salée. Quoiqu'il en soit, le mécanisme de l'action des alcalis se réduit, à mon avis, à ce fait que le stroma globulaire en fixant l'alcali, se modifie de manière à devenir plus perméable au toxique,

II. — Action antitoxique des sérums contre les glycosides.

La légère action antihémolytique que le sérum exerce contre la solanine n'a rien à voir avec les faits précédents. Les sels du sang, pris en bloc, ne sont pas protecteurs contre la solanine. C'est dans la partie non dialysable du sérum, ainsi que je l'ai montré précédemment, que se trouve la matière protectrice pour les globules contre la solanine, de même que contre tous les autres glycosides hémolytiques. Les sels du sang, au contraire, ont une action favorisante par leur alcalinité sur l'hémolyse par la solanine. La preuve en est que le sérum dialysé est plus protecteur que le sérum total. Des variations dans l'activité protectrice des divers sérums contre la solanine peuvent donc tenir soit à des différences dans la teneur en matière antitoxique, soit à des variations de l'alcalinité. A ce point de vue, j'ai constaté qu'un lapin, soumis au jeûne jusqu'à ce que son urine fût devenue acide, fournissait un sérum plus protecteur que celui d'un lapin saigné en pleine digestion et dont l'urine est fortement alcaline. M. Pohl déclare mon observation inexacte; car, dit-il, un lapin dont le poids, après cinq jours de jeûne était tombé de 1350 à 1110 gr. fournit un sérum qui, avant comme après la fin de l'expérience, avait la même action protectrice. Mais, ainsi que je l'ai d'ailleurs fait remarquer précédemment, lorsqu'on pousse l'inanition aussi loin que dans le cas ci-dessus, l'augmentation du pouvoir protecteur du sérum ne s'observe plus. L'objection de M. Pohl ne tient pas compte de cette circonstance, pourtant clairement exprimée dans mon mémoire.

Ce sont très probablement les mêmes substances qui dans le sérum agissent comme protectrices des globules contre tous les glycosides hémolytiques (saponine, cyclamine, solanine, digitaline), et c'est la cholestérine qui paraît jouer le rôle prédominant. Au moment où je corrigeais les épreuves de mon précédent mémoire, parut une note de M. Ransom(1) établissant que la cholestérine est un antidote de la saponine. A cette époque j'avais à peine eu le temps de répéter les expériences de cet auteur. Mais depuis, j'ai pu vérifier de différentes manières que la cholestérine est bien un corps antitoxique pour les globules contre la saponine, et j'ai été amené à étendre cette constatation à tous les glycosides hémolytiques.

Toutes ces substances doivent agir sur les globules par le même mécanisme. Le poison paraît se combiner avec le stroma globulaire, et la combinaison n'est plus toxique pour de nouveaux globules. Dans une

(1) F. Ransom : *Saponin und sein Gegengift.* Deutsch. medic. Wochenschr., 1901, nº 13.

solution d'un de ces glycosides capable de laquer instantanément et complètement 20 gouttes de sang par exemple, si, au lieu d'introduire cette quantité de globules d'un seul coup, on l'introduit par gouttes isolées, en attendant, avant d'introduire une nouvelle goutte, que l'hémolyse de la goutte précédente soit terminée, on observe que les dernières portions de sang ajoutées ne se laquent pas. Ce fait signalé par RANSOM pour la saponine, et que j'avais aussi observé depuis longtemps avec tous les glycosides globulicides, est le même fait que BORDET (1) avait déjà constaté avec les sérums hémolytiques. Il contient la preuve que dans une solution hémolytique les globules absorbent plus de poison qu'il n'est nécessaire pour le laquage, et que le poison se trouve consommé et neutralisé dans l'acte hémolytique. Une expérience de RANSOM prouve du reste qu'une émulsion de stromas globulaires décolorés fixe et neutralise la saponine. Le corps antitoxique existe donc dans le globule aussi bien que dans le sérum; et comme d'une part ce corps antitoxique passe en solution dans l'éther, et que d'autre part on peut réaliser *in vitro* une combinaison de cholestérine et de saponine inoffensive pour les globules, RANSOM conclut que le corps protecteur dans le sérum contre la saponine n'est autre que la cholestérine, et que l'action hémolytique de la saponine résulte de l'affinité que possède ce glycoside pour la cholestérine du stroma globulaire. Le même corps agit de la sorte comme conducteur du poison dans l'intérieur du globule, et comme protecteur du globule dans le sérum.

Si l'on traite du sérum de chien par l'éther, le résidu de l'extrait éthéré, repris par l'eau donne une émulsion laiteuse qui, comme l'a vu RANSOM, possède une action antihémolytique notable contre la saponine. Or, j'ai constaté que cette émulsion est également protectrice pour les globules contre tous les autres glycosides hémolytiques. D'autre part, si l'on agite, dit RANSOM, une solution de saponine avec une solution éthérée de cholestérine, le mélange, après départ de l'éther, n'est plus hémolytique; j'ai obtenu exactement le même résultat avec la solanine, la cyclamine, la digitaline.

Si donc la cholestérine est vraiment le corps antitoxique qui agit pour empêcher l'hémolyse dans le sérum, il y a lieu de penser que des liquides autres que le sang, contenant de la cholestérine, doivent posséder aussi la même action. Effectivement, la bile présente ce pouvoir antitoxique à un certain degré; mais comme elle est elle-même hémolytique par ses sels

---

(1) J. BORDET : *Les sérums hémolytiques, leurs antitoxines et les théories des sérums cytolytiques.* Annales de l'Institut Pasteur, mai 1900, nº 5, p. 268.

biliaires, on ne peut l'employer qu'à de faibles doses et son pouvoir antitoxique est ainsi peu accentué. Toutefois dans un mélange de 0,5 c.c. de bile de bœuf et 9,5 c.c. d'eau salée, trois gouttes de sang de bœuf peuvent demeurer très longtemps sans subir d'hémolyse; or, dans un tel milieu, il faut ajouter cinq à six fois la dose toxique de saponine pour obtenir une hémolyse rapide; au dessous l'hémolyse se fait encore, mais ne survient que très tardivement à la température de la chambre(1). Contre la solanine la protection est plus parfaite. Par contre elle est presque nulle contre la cyclamine. Tous les échantillons de bile n'ont d'ailleurs pas une action antihémolytique de même intensité. Cependant l'action antitoxique de la bile apparaît encore dans les expériences sur les têtards. Dans 100 c.c. d'eau contenant 0,01 gr. de saponine, un têtard succomba en deux heures; en ajoutant à cette solution toxique 0,5 c.c. de bile de bœuf la mort fut retardée de 48 heures; avec 1 c.c. de bile l'animal ne parut nullement intoxiqué au bout de trois jours, et remis dans l'eau pure continua à vivre. C'est, on le voit, un résultat semblable à celui que j'ai obtenu précédemment avec le sérum.

En augmentant artificiellement la quantité de cholestérine de la bile, on renforce considérablement son pouvoir antitoxique. Je suis parvenu en effet à mettre si non en solution, du moins en émulsion très fine, de la cholestérine dans de la bile, en ajoutant à de la bile de bœuf décolorée par le noir animal une solution de cholestérine dans l'éther, et évaporant ensuite l'éther. Or, il suffisait de 0,5 c.c. de ce mélange dans 10 c.c. d'eau salée pour protéger cinq gouttes de sang contre 20 fois la dose hémolytique de saponine, contre 10 fois la dose de solanine (ce n'était pas la limite de protection; celle-ci n'a pas été recherchée) et contre 40 fois la dose hémolytique de digitaline.

Un autre liquide, le vitellus de l'œuf, qui est riche en cholestérine, exerce également une action antihémolytique très marquée contre les glycosides. Si on émulsionne un jaune d'œuf (soit 20 c.c.) dans de l'eau salée physiologique (80 c.c.), on constate qu'il suffit d'ajouter une très petite quantité de cette émulsion à une solution de solanine, de saponine, etc., pour annuler l'action hémolytique. Par exemple, 2 c.c. de cette émulsion ajoutés à 8 c.c. d'une solution de saponine contenant 10 fois la dose hémolytique, protègent complètement cinq gouttes de sang de bœuf. Avec les globules du chien, plus sensibles à la saponine, il faut davantage d'émulsion pour avoir une protection complète; mais le retard de l'hémolyse se montre

(1) La chaleur augmente considérablement la rapidité de l'hémolyse par la saponine.

encore avec les globules de cet animal pour de faibles doses du corps antitoxique.

Il était à présumer aussi que les substances toxiques en question sont capables de se fixer sur d'autres éléments cellulaires que les globules rouges, et que si une émulsion de stromas peut neutraliser l'action hémolytique de la saponine, il doit en être de même d'une émulsion de cellules riches en cholestérine, comme les cellules nerveuses. En fait, ces glycosides ne s'attaquent pas seulement aux hématies; ce sont des poisons violents du protoplasma en général, et ils possèdent une action toxique très intense sur les centres nerveux(1). On broie dans un mortier 10 gr. de cerveau de

(1) La toxicité de ces glycosides est extrêmement variable suivant le lieu et le mode d'injection, ainsi que l'a déjà signalé PERLES pour la solanine. En injection souscutanée, ils produisent la nécrose du tissu cellulaire, et leur toxicité est bien moindre qu'en injection intrapéritonéale ou intraveineuse. Dans le péritoine ou sous la peau, ils produisent une réaction douloureuse extrêmement vive, allant chez le cobaye jusqu'à la syncope. En injection intraveineuse leur toxicité varie énormément suivant la vitesse de l'injection; ce fait est surtout remarquable avec la solanine, et une dose de ce poison instantanément mortelle par cette voie en injection rapide, peut n'occasionner aucun trouble si on l'introduit avec lenteur. Ces poisons ne tuent pas d'ailleurs seulement en détruisant les globules. A des doses et à des dilutions non hémolytiques, la saponine, par exemple, tue les chiens après une période d'incubation de quelques heures, pendant laquelle les animaux ne paraissent éprouver aucun malaise. En injection intracérébrale ces poisons déterminent des troubles très accentués, comme c'était à prévoir d'après leur action irritative locale si énergique et leur affinité pour les cellules nerveuses. Mais, ces troubles sont variables et peuvent même faire totalement défaut, suivant le lieu de l'injection dans l'hémisphère cérébral. Toutefois, lorsque le poison atteint certaines régions de l'encéphale, les phénomènes d'intoxication se traduisent par des symptômes très accusés. Par exemple, un chien de 7 kilogr. reçoit dans l'hémisphère droit 1/4 de c.c. d'une solution de solanine (acétate) à 0,0125 °/o. (L'aiguille de la seringue fut enfoncée dans la région du gyrus sigmoïde à 2 centim. de profondeur.) L'animal, peu après l'injection, pousse des cris de douleur; détaché, ne peut se tenir debout; quelques heures après se remet, mais éprouve la plus grande difficulté à marcher; il incurve son corps en arc de cercle vers la droite; il place ses membres dans des positions anormales et fléchit sur la patte antérieure gauche; l'insensibilité à la douleur est absolue à gauche. Les jours suivants l'animal se remet complètement et peut marcher, mais on constate qu'il incurve toujours son corps à droite, et présente une tendance à un mouvement de manège de ce côté; de plus, il fléchit souvent sur la patte antérieure gauche, tout comme un chien dont on a enlevé le gyrus sigmoïde. Au bout de quelques jours apparurent des attaques d'épilepsie jacksonienne qui se répétaient plusieurs fois par vingt-quatre heures avec une violence telle qu'il semblait que l'animal dût y succomber. Cependant à la longue, ces crises diminuèrent de fréquence et d'intensité, et au bout de deux à trois mois, ce chien était redevenu normal. Une dose extrêmement minime de solanine, qui

chien et on émulsionne la bouillie dans 50 c.c. d'une solution de solanine (acétate) à 0,1 % (dans l'eau salée physiologique). Après trois heures de contact, on centrifuge, et, le liquide étant décanté, on constate qu'il a perdu tout pouvoir hémolytique. De même 10 gr. de cerveau émulsionnés dans 50 c.c. d'une solution de saponine à 0,2 % ou dans 50 c.c. d'une solution de cyclamine à 0,1 % absorbent et fixent tout le poison, car les liquides décantés, éprouvés tels quels, sans aucune dilution, sur les globules rouges, les respectent entièrement. D'autres émulsions d'organes (comme foie, testicules) absorbent aussi le poison avec une énergie plus ou moins grande. 10 gr. de foie et 10 gr. de testicules de chien émulsionnés dans 50 c.c. de solution de solanine à 0,1 % absorbèrent tout le poison. La même quantité de tissu hépatique émulsionnée dans 50 c.c. de saponine à 0,2 % ou dans 50 c.c. de cyclamine à 0,1 % ne fixa par contre qu'une partie du poison; en effet, les liquides décantés étaient encore hémolytiques, bien que leur toxicité fut notablement affaiblie.

La question se pose maintenant de savoir si la cholestérine annule complètement l'action toxique des glycosides ou seulement leur action hémolytique. Le mélange ou combinaison (?) cholestérine-saponine, par exemple, qui n'est plus hémolytique, a-t-il perdu du même coup toute action nocive sur l'animal entier. Les expériences sur les poissons et les têtards, rapportées dans mon dernier mémoire, semblent de prime abord trancher cette question par l'affirmative. Mais, en réalité, ces expériences montrent seulement que le corps antitoxique du sérum protège l'épithélium des branchies et l'épiderme cutané contre l'action altérante du poison, de même qu'il protège les globules rouges. Il est possible que l'immunité de l'animal dans un milieu de saponine-sérum provienne de ce que le toxique n'est plus absorbé. Il faut donc pour conclure à une innocuité complète du mélange cholestérine-saponine que les animaux survivent après absorption de ce mélange. Tel serait le cas, effectivement, si l'on s'en rapporte à une expérience de Ransom. Cet expérimentateur ajoute à une solution aqueuse de saponine une solution de cholestérine dans l'éther; après agitation et exposition de quelques heures à 36° C., il chasse l'éther du mélange, filtre et injecte le filtratum dans les veines d'un cobaye, sans produire aucun symptôme d'intoxication. Ransom ajoute que ce résultat est à rapprocher

en injection intraveineuse n'eut déterminé aucun trouble, avait donc produit dans ce cas des symptômes d'intoxication extrêmement graves, en atteignant directement certains éléments nerveux. D'après le résultat de cette expérience, je crois qu'on pourrait utiliser en physiologie nerveuse les injections intracérébrales de solanine pour produire des destructions localisées.

de ceux obtenus par Phisalix et Fraser qui ont découvert, le premier l'action immunisante de la cholestérine, le second l'action immunisante de la bile contre le venin des serpents.

Ce résultat de Ransom me parut surprenant, parce que j'avais, de mon côté, dès mes premières expériences sur l'action antitoxique du sérum contre la saponine, constaté qu'un mélange de saponine-sérum, complètement inoffensif pour les globules, tuait encore les animaux en injection intrapéritonéale ou intraveineuse. Mais, en envisageant de près l'expérience de Ransom, je suis porté à penser que cet auteur n'a nullement injecté à l'animal le mélange cholestérine-saponine, parce que ce dernier devient insoluble dans l'eau, de même que la cholestérine pure, après le départ de l'éther de la solution, et reste sur le filtre. Le liquide injecté ne devait donc point contenir de saponine. C'est du moins ce qui me paraît résulter de l'expérience suivante. Une solution de 1 gr. de saponine dans l'eau fut additionnée de 1 gr. de cholestérine dissoute dans l'éther. Pour une proportion convenable d'eau et d'éther, je parvins à maintenir en solution les deux corps et à les mélanger intimement. Après quelques heures de contact à 36° la solution fut évaporée à siccité au bain-marie; or, le résidu repris par l'eau distillée était devenu insoluble, sauf une petite quantité (0,3 gr.) d'un corps coloré en brun, qui devait être une impureté de la saponine et qui, en fait, n'était pas toxique. En reprenant par l'éther le produit resté sur le filtre, on put séparer de nouveau la cholestérine de la saponine. La cholestérine se dissout dans l'éther, et il resta un résidu qui était la saponine; celle-ci se dissolvait dans l'eau salée (difficilement à froid contrairement à la saponine primitive, mais facilement à chaud), et communiquait à celle-ci le pouvoir hémolytique.

Si dans le sérum, la saponine en s'unissant à la cholestérine reste en dissolution, cela tient naturellement à ce que les conditions de solubilité pour le mélange sont les mêmes que pour la cholestérine pure. Mais dans un mélange d'éther et d'eau, la saponine se fixe sur la cholestérine, et, si l'on chasse le dissolvant de la cholestérine, la saponine passe en même temps que cette dernière à l'état insoluble; le produit de filtration n'est donc plus que de l'eau.

Si donc il paraît bien prouvé qu'il se fait entre la cholestérine et la saponine une association ou combinaison (?) non toxique pour les globules rouges, il reste à démontrer que cette association est également inoffensive pour d'autres éléments cellulaires, comme, par exemple, les cellules nerveuses. Or, ni le sérum, ni la bile, ni l'émulsion de jaune d'œuf ajoutés à une solution toxique de saponine, en proportion convenable pour lui

enlever son action hémolytique, ne lui enlèvent son action toxique pour l'animal entier.

A une série de cobayes j'injecte, par exemple, dans la cavité péritonéale 10 c.c. d'une émulsion de jaune d'œuf dans l'eau salée (au titre indiqué précédemment). Tous ces animaux survivent et n'éprouvent aucun trouble. Le jaune d'œuf n'est pas toxique à cette dose. Mais, si on y ajoute 0,01 gr. à 0,02 gr. de saponine, bien que le mélange ne soit pas hémolytique, tous les animaux injectés meurent au bout de quelques heures; et cependant on note, au moment de l'injection, que la saponine par son mélange avec le jaune d'œuf a perdu toute action irritante locale. L'émulsion de jaune d'œuf peut être injectée dans les veines d'un chien à la dose de 10—20 c.c. sans produire aucun accident (car c'est une émulsion assez fine pour ne point occasionner d'embolies); si on y ajoute 1 à 2 centigr. de saponine, le mélange a la même toxicité que la saponine dans l'eau salée. Dans les premières heures après l'injection, il est vrai, les animaux ne présentent aucun trouble apparent; mais cela tient à la période d'incubation de la saponine; la mort n'arrive qu'au bout de quelques heures. Même résultat si on injecte dans les veines un mélange de sérum et saponine inoffensif pour les globules. Ainsi, un chien de 4150 gr. reçut par la veine saphène 0,01 gr. de saponine en solution dans 50 c.c. de sérum de chien (quantité beaucoup plus que suffisante pour neutraliser l'action hémolytique du poison). Aussitôt après l'injection, il ne parut en être nullement affecté; mais douze heures après il était mort. Un autre chien de 8 kilogr. reçut de même 0,01 gr. de saponine en solution dans 50 c.c. de sérum de chien chauffé à 50°C. Il succomba en 48 heures.

En résumé donc, pour tirer la conclusion de tous les faits que j'ai observés, et dont les principaux sont relatés ici, je pense qu'il y a de bonnes raisons d'admettre que le pouvoir antihémolytique du sérum contre les glycosides revient, pour la plus grande part, à la cholestérine du sérum, ainsi que l'a montré Ransom avec la saponine; mais que le mélange ou combinaison (?) du poison avec la cholestérine, s'il est inoffensif pour les globules rouges et quelques autres éléments cellulaires, comme l'épithélium branchial et l'épiderme des poissons, conserve toute la toxicité du poison pur pour l'animal entier, lorsqu'il pénètre dans le milieu intérieur, soit parce que le mélange se dissocie dans le corps de l'animal, soit plutôt parce qu'il est encore toxique pour certaines cellules, comme les cellules nerveuses.

Montpellier, 20 novembre 1901.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn.
Director Prof. C. Binz.

Ueber einen Antikörper gegen Blutegelextract.

von

Dr H. WENDELSTADT,
Privatdocent und Assistent am Pharmakol. Institut.

Ueber die chemische Zusammensetzung des Blutegelextractes und über die Ursachen seiner gerinnungshemmenden Wirkung (1) auf das Blut sind wir bisher nicht genügend aufgeklärt. Dickinson (2) sieht ihn als ein Proteïd der Albuminosengruppe an; von anderer Seite wird er der Gruppe der fermentartigen Stoffe zugezählt. Die Zugehörigkeit des Blutegelextractes zu diesen chemischen Körpern und die doch wahrscheinliche nahe Verwandtschaft mit den Thier- und Pflanzengiften, mit welchen die Erzeugung einer Immunität gelungen war, veranlassten mich zu den Versuchen, auch gegen ihn im Thierkörper einen Antikörper zu bilden. Ueber die gewonnenen Resultate berichte ich in dieser Arbeit. Bei der Ausführung derselben half mir Fräulein T. Fellmer, der ich auch an dieser Stelle meinen Dank dafür ausspreche.

Den Extract zu diesen Versuchen bereitete ich, indem ich die Köpfe der Blutegel, welche in den Saugnäpfen um die Mundöffnung und den Schlund die wirksame Substanz enthalten, mit sterilisiertem Glasstaub zu einem Brei verrieb und mit 0,85 % Kochsalzlösung extrahierte. Es wurden jedesmal 15 Köpfe auf 20 c.c. Flüssigkeit genommen. Nach der Filtration erhielt ich eine trübe bräunlich gefärbte Flüssigkeit. Der gerinnungs-

(1) Haykraft: *Ueber die Einwirkung eines Secretes des officinellen Blutegels auf die Gerinnbarkeit des Blutes.* Archiv f. experim. Pathologie u. Pharmakol. Bd. 18.

(2) Dickinson: *Leech Extract and its actions on the blood.* Journ. of Physiol., XI, 1870.

hemmende Einfluss war natürlich bei den verschiedenen Extracten auch verschieden stark. Derselbe wurde deshalb bei jedem Extract genau bestimmt. Zu diesem Zwecke bringt man in eine Reihe von Reagensgläsern Blutegelextract in stets absteigender Menge. Dann füllt man alle Gläser mit 0,85 % Kochsalzlösung bis zu gleichem Inhalte auf und lässt in jedes Glas aus einer Ohrvene eines Kaninchens zwei Tropfen frischen Blutes fallen, schüttelt um und beobachtet dann den Eintritt der Gerinnung. Die Concentration, die noch gerinnungshemmend wirkt, ist auf diese Weise ganz exact zu bestimmen. Die Resultate stimmten bei einer Reihe von Versuchen mit demselben Extracte stets ganz genau überein. Unterhalb der noch gerinnungshemmenden Concentration gerann stets der Inhalt aller Reagensgläser.

Der Blutegelextract wurde Kaninchen subcutan oder intraperitoneal in steigender Dosis von 1 bis zu 5 c.c. beigebracht. Zunächst hatte ich eine Ziege als Versuchsthier gewählt, dieselbe bildete aber nur sehr schwachen Antikörper, und ich benutzte weiterhin nur Kaninchen. Die Injectionen riefen bei vielen Thieren schwere Eiterungen und Peritonitis hervor, woran eine grosse Zahl zu Grunde ging. Das Injectionsmaterial war nicht sterilisiert. Ich sah von einem Sterilisieren des Extractes durch hohe Temperaturen oder durch Zusatz von Antisepticis ab, weil ich hierbei eine Abschwächung oder störende Veränderung des Extractes fürchtete, und nahm lieber das unsterilisierte Material, trotz des dadurch herbeigeführten Verlustes von Thieren. Bei den letzten Versuchen wurden die Blutegel, ehe der Kopf abgetrennt wurde, in 4 % Formalin gewaschen, wonach weniger Sepsis auftrat, und der Extract vollkommen wirksam blieb. In der von mir angewandten Concentration scheint der Blutegelextract an sich auch giftig zu wirken, wenigstens starben viele Thiere wenige Stunden nach der Injection ohne Zeichen einer Sepsis. Das Blut war dann von tiefdunkler Farbe und gerann nicht oder doch sehr viel langsamer als normales.

Das Serum der fünf Kaninchen, welche die Injectionen von grösseren Dosen überstanden hatten, zeigte im Reagensglase eine deutliche Gegenwirkung gegen den Blutegelextract.

Die gerinnungshemmende Wirkung des Blutegelextractes wurde durch Zusatz des Antiserums bis zu einem gewissen Grade wieder aufgehoben. Blutegelextract + normales Serum + 2 Tropfen Blut wurden auf der einen Seite geprüft, auf der anderen Blutegelextract + Antiserum + 2 Tropfen Blut.

Die folgenden Versuche, die aus einer grossen Reihe gleich beweisender ausgewählt sind, zeigen deutlich den Einfluss des Antiserums.

Die Versuchsanordnung war bei allen Versuchen die gleiche. In eine Reihe von Reagensgläsern wurde die gleiche Menge Serum mit absteigenden Mengen Blutegelextract gemischt und eine Stunde lang im Brütschrank bei 37° gehalten. Bei allen Gläsern wurde die Flüssigkeitsmenge mit 0,85 % Kochsalzlösung auf 2,0 c.c. gebracht. Zuletzt wurden 2 Tropfen frischen Kaninchenblutes hinzugebracht und umgeschüttelt. Die bei allen Versuchen sich gleichbleibenden Zusätze von Kochsalzlösung und Blut habe ich in den folgenden Tabellen nicht aufgeführt, um dieselben übersichtlicher zu halten. Die Angaben über die eingetretene oder ausgebliebene Gerinnung beziehen sich, wenn keine Zeitangaben gemacht sind, auf die je nach der Zusammenstellung der Mischung in kürzerer oder längerer Zeit eintretenden und dann unverändert bis zur beginnenden Zersetzung bleibenden Resultate. Bei gleichen Mischungen gleicher Componenten trat die Gerinnung stets an der gleichen Concentrationsstelle und nach derselben Zeit ein.

Die mit Blutegelextract behandelten Kaninchen nenne ich der Einfachheit halber Blutegel-Kaninchen. Das Serum wurde immer durch Centrifugieren des defibrinierten Blutes gewonnen.

Versuch I.

Das Blutegelkaninchen war vom 8. 11. 00 bis zum 19. 12. 00 mit langsam ansteigenden Mengen von Extract, mit 1 c.c. beginnend und mit 4 c.c. am 19. 12. 00 endigend, in Zwischenräumen von wenigen Tagen intraperitoneal eingespritzt worden. Der Versuch wurde am 22. 12. 00 mit frisch entnommenem Serum ausgeführt. Tabelle A zeigt die Wirkung des Blutegelextractes mit normalem Kaninchenserum, Tabelle B dieselbe mit Blutegelkaninchenserum.

A.(1) Normales Kaninchenserum + Blutegelextract.

	Normales Kaninchenserum	Blutegelextract	
1)	0,5 c.c.	0,06	Keine Gerinnung
2)	»	0,05	Keine Gerinnung
3)	»	0,04	Keine Gerinnung
4)	»	0,03	Keine Gerinnung
5)	»	0,02	Keine Gerinnung
6)	»	0,01	Keine Gerinnung
7)	»	0,009	Keine Gerinnung
8)	»	0,008	Keine Gerinnung
9)	»	0,007	Gerinnung
10)	»	0,006	Gerinnung

(1) Hier, wie in allen folgenden Tabellen ist bei jedem Reagensglase zu ergänzen + Kochsalzlösung (auf 2 c.c. aufgefüllt) + 2 Tropfen frischen Kaninchenblutes. Wie ich schon oben sagte, sind diese Zusätze in den Tabellen der Uebersichtlichkeit halber fortgelassen.

B. Blutegelkaninchenserum + Blutegelextract.

1)	0,5 c.c.	0,06	Keine Gerinnung
2)	»	0,05	
3)	»	0,04	
4	»	0,03	
5)	»	0,02	
6)	»	0,01	Gerinnung
7)	»	0,009	
8)	»	0,008	
9)	»	0,007	
10)	»	0,006	

Versuch II.

Wurde am 5. 1. 01 mit frisch entnommenem Serum desselben Blutegelkaninchens wie Versuch I gemacht, nachdem das Thier am 29 12. 00 nochmals eine Injection von 4,5 c.c. Extract erhalten hatte.

A. Normales Kaninchenserum + Blutegelextract.

1)	0,5 c.c	0,08	
2)	»	0,06	
3)	»	0,04	Keine Gerinnung
4)	»	0,02	
5)	»	0,015	
6)	»	0,01	Gerinnung
7)	»	0,005	

B. Blutegelkaninchenserum + Blutegelextract.

1)	0,05 c.c	0,08	
2)	»	0,06	
3)	»	0,04	
4)	»	0,02	Gerinnung
5)	»	0,015	
6)	»	0,01	
7)	»	0,005	

Versuch III.

Das Serum stammt von einem Kaninchen, das am 3. 5. 01 mit 1 c.c. Blutegelextract intraperitoneal injiciert worden war. Bis zum 7. 6. 01 war die Dosis langsam bis auf 4 c.c. gestiegen, und diese Menge war bis zum 17. 6. 01 dreimal injiciert worden. Am 19. 6. 01 wurde das Thier entblutet, und der folgende Versuch angestellt.

A. Normales Kaninchenserum + Blutegelextract.

1)	0,05 c.c.	0,1	
2)	»	0,09	
3)	»	0,08	Keine Gerinnung
4)	»	0,07	
5)	»	0,06	
6)	»	0,05	

Normales Kaninchenserum + Blutegelextract.

7)	0,05 c.c.	0,04	Keine Gerinnung
8)	»	0,03	Keine Gerinnung
9)	»	0,02	Gerinnung
10)	»	0,01	Gerinnung

B. Blutegelkaninchenserum + Blutegelextract.

1)	0,5 c.c.	0,1	Gerinnung
2)	»	0,09	Gerinnung
3)	»	0,08	Gerinnung
4)	»	0,07	Gerinnung
5)	»	0,06	Gerinnung
6)	»	0,05	Gerinnung
7)	»	0,04	Gerinnung
8)	»	0,03	Gerinnung
9)	»	0,02	Gerinnung
10)	»	0,01	Gerinnung

Bei Versuch I wurde das Blut + normalem Kaninchenserum schon durch einen Zusatz von 0,008 c.c. Blutegelextract am Gerinnen verhindert, während das Serum noch bei einem Zusatz von 0,05 c.c. Extract gerann. Bei Versuch II blieb das normale Kaninchenserum + Blut bei Zusatz von 0,015 c.c. Extract flüssig, während Blutegelkaninchenserum + Blut noch mit 0,08 c.c. gerann. Bei Versuch III sind die entsprechenden Extractmengen 0,03 c.c. bei normalem und 0,1 c.c. bei Blutegel-Kaninchenserum.

Die übrigen zahlreichen Versuche mit dem Serum der fünf Blutegelkaninchen, die ich zur Verfügung hatte, ergaben immer das gleiche Resultat einer *Aufhebung der gerinnungshemmenden Wirkung des Blutegelextractes durch das Serum eines Blutegelkaninchens*. Ausser diesen fünf Thieren, die mit 4—5 c.c. Extract eingespritzt waren, bildeten eine Reihe anderer Kaninchen, die so grosse Gaben Extract nicht vertragen hatten, auch einen Antikörper, aber in schwächerem Masse.

Eine *Inactivierung* des Blutegelkaninchenserums versuchte ich durch *Erwärmen auf 57° und 60°*. Eine Wirkung war bemerkbar, die Gerinnung ging bei dem mit diesem inactivierten Serum angesetzten Versuche nicht so hoch hinauf, wie vor dem Erwärmen. Die Gerinnungsfähigkeit des normalen Kaninchenserums wurde aber durch die Temperatur auch herab gesetzt, weil der eine oder der andere Erreger der normalen Gerinnung durch die Erwärmung auf 57° oder 60° geschädigt wird.

Zu der folgenden Tabelle, die von einem derartigen Inactivierungsversuche zummengestellt ist, wurde dasselbe Serum und derselbe Extract

wie oben bei Versuch III verwendet und die dortige Tabelle ist zum Vergleich heranzuziehen.

A. Normales Kaninchenserum + Blutegelextract.
1 Stunde auf 60° erhitzt.

1)	0,5 c.c.	0.03 c.c.	Keine Gerinnung.
2)	»	0,02 »	
3)	»	0,01 »	
4)	»	0,009 »	
5)	»	0,008 »	
6)	»	0,007 »	

Bei Versuch III war das Serum noch mit Zusatz von 0,02 c.c. Extract geronnen.

B. Blutegelkaninchenserum + Blutegelextract.
1 Stunde auf 60° erhitzt.

1)	0,5 c.c.	0,07 c.c.	Keine Gerinnung.
2)	»	0,06 »	
3)	»	0,05 »	
4)	»	0,04 »	
5)	»	0,03 »	Gerinnung.
6)	»	0,02 »	

Dasselbe Serum activ gerann noch mit 0,1 c.c. Blutegelextract. *Mithin nahmen normales und Blutegelkaninchenserum durch Inactivierung mit Wärme an Gerinnungsfähigkeit ab.* Bei Inactivierung 1/2 Stunde bei 57° war die Wirkung etwas weniger aber doch auch deutlich abgeschwächt.

Die Inactivierung eines anderen starkwirksamen Blutegelkaninchen-Serums zeigte ein gleiches Resultat. Während vorher eine Mischung von 1 c.c. Blutegelkaninchenserum + 0,05 c.c. Blutegelextract + Blut in 15 Minuten gerann, trat nach der Erwärmung die Gerinnung erst nach 2 Stunden ein.

Der Versuch einer *Inactivierung mit Zusatz von Salzsäure* (0,1 HCl + 0,9 Blutegelkaninchenserum 40 Minuten bei 37°), wie sie Ehrlich und Morgenroth (1) bei ihren haemolytischen Versuchen angewandt haben, erwies sich als wirkungslos.

Es war nun die Frage, ob es sich wirklich um einen gegen den Blutegelextract gebildeten Antikörper handelte und nicht um eine Veränderung der Zusammensetzung des Blutes, welche ohne irgend einen Zusammenhang mit Bildung von Immunkörper den so complicierten

(1) Ehrlich und Morgenroth : *Ueber Hämolysine.* Zweite Mittheilung, Berl. klin. Wochenschr., 1899, n° 22.

Mechanismus der Gerinnung störte und das Vorhandensein eines Antikörpers vortäuschte.

Für einen Antikörper sprach die Art der Entstehung der wirksamen Substanz. Wenn wir uns die Entstehung eines Immunkörpers graphisch darstellen wollen, so entspricht bekanntlich das Auftreten desselben nach einer Injection der Grundsubstanz, gegen welche immunisiert wird, nicht einer einfach aufsteigenden Linie, sondern es entsteht eine Curve, die zunächst abfällt und dann erst steil ansteigt. Dasselbe geschieht nach einer Injection von Blutegelextract. Einige Stunden nach einer solchen gerann das Serum noch nicht bei einem so geringen Zusatz von Blutegelextract, bei welchem normales Serum noch fest gerann. Dickenson (loc. cit.) hat auch beobachtet, dass nach einer Blutegelextractinjection das Blut für einige Stunden seine Gerinnbarkeit verliert. Es tritt also zunächst nicht nur keine Gegenwirkung gegen den Blutegelextract, sondern eine Förderung seiner Wirkung zu Tage. Erst 24 Stunden nach der Injection tritt der Antikörper auf, um dann nach 48 Stunden seine Höhe zu erreichen. Er ist nach 14 Tagen noch deutlich nachweisbar und erst nach 3 Wochen verschwunden. Ich würde vielleicht eine länger dauernde Immunität erreicht haben, wenn ich die Dosis über 5 c.c. gesteigert hätte.

Dass es sich um einen *specifischen Antikörper* gegen den Blutegelextract handelt, zeigt sich auch darin, dass Blutegelkaninchenserum + 2 Tropfen Blut genau in derselben Zeit wie eine gleiche Menge normales Kaninchenserum + 2 Tropfen Blut coaguliert. Es ist also nicht anzunehmen, das es die Vermehrung einer der bei der Gerinnung betheiligten Substanzen ist, welche den Unterschied in der Gerinnung bei Anwesenheit von Blutegelextract bedingt, sonst würde wohl die Gerinnung überhaupt früher eintreten. Der Antikörper macht sich erst bemerkbar, wenn das Serum des Blutegelkaninchens mit dem Blutegelextract selbst in Berührung kommt.

Auch das Blut eines gegen den Extract hoch immunisierten Kaninchens gerinnt in derselben Zeit wie normales Kaninchenblut.

Die Annahme der Bildung eines Antikörpers wird dadurch gesichert, dass es mir gelungen ist, gegen den *Antikörper* auch noch einen *Antiantikörper* zu gewinnen. Bei einer Ratte erhielt ich durch subcutane und bei einem Kaninchen durch intravenöse Injection von gerinnungsbeförderndem Blutegelkaninchenserum ein *gerinnungshemmendes Antiblutegelkaninchenserum*. Die Mischung Blutegelextract + Blutegelkaninchenserum + Antiblutegelkaninchenserum + Blut gerinnt bedeutend später als Blutegelextract + Blutegelkaninchenserum + normales Kaninchenserum + Blut. Die folgenden Tabellen illustrieren deutlich die Wirkung.

Die Ratte erhielt am 18.6.01 intraperitoneal 1,5 c.c., am 20.6.01 5 c.c. und am 24.6.01 7,5 c.c. Blutegelkaninchenserum. Die Wirkung des Serums war deutlich, aber nicht so stark, wie bei dem intravenös injicierten Kaninchen, das am 10.7.01 5 c.c., am 12.7.01 7 c.c. und am 16.7.01 9 c.c. Blutegelkaninchenserum erhalten hat. Am 18.7.01 wurde das Serum entnommen, mit welchem eine Reihe von Versuchen mit stets gleichem Resultate gemacht wurden, aus denen die hierunterstehenden ausgewählt sind.

Zuerst wurde Antiblutegelkaninchenserum gemischt mit Blutegelkaninchenserum eine Stunde bei 37° stehen gelassen. Darauf wurde Blutegelextract zugesetzt und die Mischung noch eine Stunde in den Thermostaten gestellt. Darauf kamen nach Auffüllung mit 0,85 % Kochsalzlösung auf 2 c.c. in alle Gläser 2 Tropfen frischen Kaninchenblutes. Ebenso wurde eine Reihe angesetzt, in welcher an Stelle des Antiblutegelkaninchenserums normales Kaninchenserum genommen wurde.

Versuch I.

A.	Normales Kaninchenserum +	Blutegelkaninchenserum +	Blutegelextract.	Gerinnung nach
1)	5 Tropfen	0,2 c.c.	0,08 c.c.	15 Minuten
2)	5 »	0,3 »	0,08 »	5 »
3)	5 »	0,4 »	0,08 »	
4)	5 »	0,5 »	0,08 »	3 »
5)	5 »	0,6 »	0,08 »	

B.	Antiblutegelkaninchenserum +	Blutegelkaninchenserum +	Blutegelextract.	Gerinnung nach
1)	5 Tropfen	0,2 c.c.	0,08 c.c.	40 Minuten
2)	5 »	0,3 »	0,08 »	30 »
3)	5 »	0,4 »	0,08 »	
4)	5 »	0,5 »	0,08 »	15 »
5)	5 »	0,6 »	0,08 »	

Versuch II.

A.	Normales Kaninchenserum +	Blutegelkaninchenserum +	Blutegelextract.	Gerinnung nach
1)	0,55 c.c.	0,25 c.c.	0,09 c.c.	9 Minuten
2)	0,5 »	0,25 »	0,09 »	10 »
3)	0,45 »	0,25 »	0,09 »	10 »
4)	0,4 »	0,25 »	0,09 »	12 »
5)	0,35 »	0,25 »	0,09 »	14 »
6)	0,3 »	0,25 »	0,09 »	13 »
7)	0,25 »	0,25 »	0,09 »	14 »
8)	0,2 »	0,25 »	0,09 »	24 »

B.	Antiblutegelkaninchenserum +	Blutegelkaninchenserum +	Blutegelextract.	Gerinnung nach
1)	0,55 c.c.	0,25 c.c.	0,09 c.c.	80 Minuten
2)	0,5 »	0,25 »	0,09 »	75 »
3)	0,45 »	0,25 »	0,09 »	68 »
4)	0,4 »	0,25 »	0,09 »	
5)	0,35 »	0,25 »	0,09 »	
6)	0,3 »	0,25 »	0,09 »	60 »
7)	0,25 »	0,25 »	0,09 »	
8)	0,2 »	0,25 »	0,09 »	40 »

Zum Vergleich wurde eine Reihe angesetzt, in der die Menge des Antiblutegelkaninchenserums + Blutegelkaninchenserum durch normales Kaninchenserum ersetzt wurde.

C.	Normales Kaninchenserum +	Blutegelextract.	Gerinnung nach
1)	0,8 c.c.	0,09 c.c.	
2)	0,75 »	0,09 »	30 Minuten
3)	0,7 »	0,09 »	
4)	0,65 »	0,09 »	32 »
5)	0,6 »	0,09 »	37 »
6)	0,55 »	0,09 »	40 »
7)	0,5 »	0,09 »	50 »
8)	0,45 »	0,09 »	52 »

Das Antiblutegelkaninchenserum hat in seiner Wirkung grosse Aehnlichkeit mit dem Blutegelextract. *Es verhindert die Gerinnung des Blutes.*

Normales Kaninchenserum mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt bis zu 2 c.c. + 2 Tropfen Blut gerann in folgender Weise :

1) 1 c.c. nach 5 Minuten
2) 1,5 » » 3 »

Antiblutegelkaninchenserum ebenso aufgefüllt + 2 Tropfen Blut zeigte folgende Wirkung :

1) 1 c.c.
2) 1.5 »
} bleiben dauernd ungeronnen.

Während die Inactivierung durch Erwärmen auf 57° eine halbe Stunde lang die Gerinnungsfähigkeit des normalen Serums und die gerinnungsfördernde Einwirkung des Blutegelkaninchenserums abschwächt, wird die gerinnungshemmende Wirkung des Antiblutegelkaninchenserums dadurch nicht nur nicht vermindert, sondern erhöht.

A.	Actives Antiblutegelkaninchenserum +	Blutegelkaninchenserum +	Blutegelextract	
1)	0,55 c.c.	0,25 c.c.	0,09 c.c.	
2)	0,5 »	0,25 »	0,09 »	Gerinnung.
3)	0,45 »	0,25 »	0,09 »	
4)	0,4 »	0,25 »	0,09 »	

B. Inactiviertes Antiblutegelkaninchenserum +	Blutegelkaninchenserum +	Blutegelextract	
1) 0,55 c.c.	0,25 c.c.	0,09 c.c.	Keine Gerinnung
2) 0,5 »	0,25 »	0,09 »	
3) 0,45 »	0,25 »	0,09 »	
4) 0,4 »	0,25 »	0,09 »	

Die wirksame Substanz in dem Antiblutegelkaninchenserum ist wärmebeständig. Das normale Serum verliert, wie ich oben gezeigt habe, durch Erwärmen an seiner Gerinnungsfähigkeit. Diese gerinnungsbefördernden Substanzen des normalen Serums werden auch in dem Antiblutegelkaninchenserum wirksam sein. Wenn sie nun zum Theil durch Erwärmen abgeschwächt werden, so kommt dadurch das wärmebeständige gerinnungshemmende Prinzip des Antiblutegelkaninchenserums noch mehr zur Geltung.

Bei dem Kaninchen war 13 Tage nach der letzten intravenösen Injection von Blutegelkaninchenserum jede Spur von dem Antikörper verschwunden.

Bei einer Reihe von Immunität erzeugenden Substanzen ist es gelungen, experimentell die Organe festzustellen, deren Zellen die passenden Receptoren enthalten, und die dadurch nach der Ehrlich'schen Theorie die Ursprungsstellen des Antikörpers sind. Die dahin gehenden Versuche mit Blutegelextract stellte ich nach der bekannten Methode von Pfeiffer und Marx(1) an. Gleiche Mengen der lebenden Organe eines vollständig ausgebluteten Kaninchens, durch dessen Blutgefässe so lange 0,85 % Kochsalzlösung gepumpt worden war, bis sie klar abfloss, wurden mit sterilisiertem Glasstaube zu einem Brei verrieben und dann eine Stunde lang mit Blutegelextract zusammen in den Brütschrank in 37° gebracht. Dann wurde abfiltriert und geprüft, welche Organe die Wirkung des Extractes abgeschwächt hatten. *Pancreas, Leber* und *Niere* schwächten deutlich ab, besonders das erste. Pancreas + Blutegelextract behandelt wie oben beschrieben + Blut gerann bedeutend schneller als dieselbe Mischung mit Zellen von Leber und Niere, die aber auch noch eine deutliche Wirkung herbei führten. Gehirn und Lunge hatten einen sehr geringen abschwächenden Einfluss; Milz, Darm, Magen, Muskel gar keinen. Dass nur die lebende Zelle diesen Einfluss hatte, zeigte sich ganz deutlich bei Controllversuchen mit abgestorbenen Pancreaszellen, die 24 Stunden im Eisschrank gestanden hatten. Diese Zellen waren ganz wirkungslos.

(1) Pfeiffer und Marx : *Untersuchungen über die Bildungsstätte der Cholera Antikörper.* Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 27, 1896.

Mehrfache Versuche ergaben stets dieselben Resultate für die Einwirkung der Zellen der einzelnen Organe.

Mit dem Serum von Blutegelkaninchen machte ich noch eine Reihe von Versuchen, die dazu beitragen können, per exclusionem die Thatsache der Bildung eines Antikörpers zu sichern.

Nach Al. Schmidt gerinnt $MgSO_4$ Plasma aus Ochsenblut nur auf Zusatz von freiem Fibrinferment. Das Plasma wurde nach Vorschrift bereitet, indem Ochsenblut in einer concentrierten Lösung von $MgSO_4$ aufgefangen und centrifugiert wurde. Das so gewonnene Plasma wurde filtriert, im Vacuum getrocknet und pulverisiert. Beim Gebrauch wurde ein Theil Pulver in 7,5 Theilen Wasser gelöst. Die folgende Tabelle ist aus einem der hierher gehörigen Versuche entnommen.

A. Normales Kaninchenserum + $MgSO_4$ Plasma

	Normales Kaninchenserum	$MgSO_4$ Plasma	
1)	1,0 c.c.	2 c.c.	feste Gerinnung.
2)	0,75 »	2 »	
3)	0,5 »	2 »	
4)	0,25 »	2 »	
5)	0,20 »	2 »	
6)	0,15 »	2 »	
7)	0,10 »	2 »	
8)	0,05 »	2 »	
9)	0,025 »	2 »	allmälig abgestufte Gerinnung mit wenigen Fibrinfäden.
10)	0,0125 »	2 »	
11)	0,00625 »	2 »	
12)	0,00312 »	2 »	keine Gerinnung.
13)	0,00150 »	2 »	

B. Blutegelkaninchenserum + $MgSO_4$ Plasma

	Blutegelkaninchenserum	$MgSO_4$ Plasma	
1)	1,0 c.c.	2 c.c.	feste Gerinnung.
2)	0,75 »	2 »	
3)	0,50 »	2 »	
4)	0,25 »	2 »	
5)	0,20 »	2 »	
6)	0,15 »	2 »	
7)	0,10 »	2 »	
8)	0,05 »	2 »	
9)	0,025 »	2 »	allmälig abgestufte Gerinnung.
10)	0,0125 »	2 »	
11)	0,00625 »	2 »	
12)	0.00312 »	2 »	keine Gerinnung.
13)	0,00150 »	2 »	

Ein Unterschied in der Gerinnung zwischen den beiden Serum Arten

trat nicht ein. Eine Vermehrung *des freien Fibrinfermentes* war also bei dem Blutegelkaninchen *nicht eingetreten.*

Liquor pericardii des Pferdes gerinnt nach AL. SCHMIDT auf Zusatz von Fibrinferment und Serumglobulin. Diese Flüssigkeit gerann genau ebenso bei Zusatz von normalem Serum, wie bei dem von Blutegelkaninchenserum. Die Reihen wurden ebenso wie bei dem $MgSO_4$ Plasma eingestellt und die Gerinnung beider Serumarten ging gleich hoch und zeigte auch keinen zeitlichen Unterschied.

Ebenso verhielten sich beide Serumarten ganz gleichmässig gegenüber *kalt filtriertem Pferdeblutplasma,* das auf Zusatz von Leucocyten oder des in den Leucocyten enthaltenen Zymogen des Fibrinfermentes spontan Fibrin bildet.

Nach Angabe von LILIENFELD(1) wurde durch Einbringen von Nucleohiston in den Kreislauf bei einem Kaninchen Histonblut gewonnen, das spontan nicht mehr gerann. Die enorme Verschiedenheit der Gerinnung dieses Blutes bei Zusatz der beiden Serumarten zeigt die folgende Tabelle.

A. Normales Kaninchenserum + Histonblut.

1)	1,0 c.c.	5 Tropfen	nach einer Stunde geronnen.
2)	0,75 »	5 »	schwache Gerinnung nach 12 Stunden.
3)	0,5 »	5 »	
4)	0,25 »	5 »	
5)	0,1 »	5 »	
6)	0,075 »	5 »	
7)	0,05 »	5 »	
8)	0,025 »	5 »	
9)	0,01 »	5 »	

B. Blutegelkaninchenserum + Histonblut.

1)	1,0 c.c.	5 Tropfen	sofortige Gerinnung.
2)	0,75 »	5 »	
3)	0,5 »	5 »	Gerinnung nach 3 Minuten.
4)	0.25 »	5 »	
5)	0.1 »	5 »	
6)	0,075 »	5 »	
7)	0,05 »	5 »	
8)	0,025 »	5 »	
9)	0,01 »	5 »	

Aus dem Blute eines anderen in gleicher Weise mit Nucleohiston behandelten Kaninchens wurde Histonplasma gewonnen, das ebenfalls

(1) LILIENFELD : *Ueber Blutgerinnung*. Zeitschr. physiol. Chemie, Bd. XX.

mit den beiden Serumarten zusammengebracht die verschiedene Wirkung zeigte.

A. Normales Kaninchenserum + Histonplasma.

1)	0,5 c.c.	1,0 c.c.	nach 6 Stunden noch keine Gerinnung.
2)	0,25 »	» »	
3)	0,1 »	» »	
4)	0,05 »	» »	
5)	0,025 »	» »	

B. Blutegelkaninchenserum + Histonplasma.

1)	0,5 c.c.	1,0 c.c.	sofortige Gerinnung.
2)	0,25 »	1,0 »	
3)	0,1 »	1,0 »	
4)	0,05 »	1,0 »	
5)	0,025 »	1,0 »	Gerinnung nach 8 Minuten.

Die LILIENFELD'sche Arbeit legte nun den Gedanken nahe, dass es sich um eine Vermehrung des Nucleïns in dem Serum des Blutegelkaninchens handeln könnte. Mehrfache vergleichende Untersuchungen auf Phosphorsäure beider Serumarten (Veraschung und Fällung mit Magnesiumgemisch) ergaben keine Vermehrung in dem Blutegelkaninchenserum gegenüber dem normalen Serum. Im Gegentheil wurde in dem normalen stets mehr Phosphorsäure gefunden. Die Prüfungen wurden von Herrn GERLINGER, chemischem Assistenten des Pharmakologischen Instituts ausgeführt. Bei einer quantitativen Analyse fanden sich in 11 c.c. normalem Kaninchenserums 0,0012 $Mg_2P_2O_7$, während der Niederschlag aus der gleichen Menge des Blutegelkaninchenserums zu gering war, um gewogen werden zu können.

Die Vermehrung des Nucleïngehaltes des Blutegelkaninchenserums kommt also nicht bei der Erklärung des Verhaltens gegenüber dem Histonblut und Histonplasma in Betracht.

Die Frage, ob es sich um eine Wirkung des gewonnenen Antikörpers handelt, muss ich offen lassen, da ich keine weiteren Experimente in dieser Richtung gemacht habe.

Der Einfluss der Kalksalze auf die Gerinnung des Blutes ist durch verschiedene Arbeiten(1) der letzten Zeit nachgewiesen worden. Es lag daher auch die Frage nahe, ob sich diese Salze durch die Injection von

(1) ARTHUS et PAGÈS : *Nouvelle théorie chimique de la coagulation du sang.* Arch. de Physiologie, 1890.

Blutegelextract im Serum des Kaninchens vermehrt hätten. M. ARTHUS(1) hat diese Frage schon im negativen Sinne entschieden. Er kommt zu der Schlussfolgerung : « L'extrait de sangsues n'agit donc pas sur les sels de chaux. » Oxalatplasma, in welchem die Kalksalze ausgefällt sind, verhielt sich bei meinen Versuchen ganz gleich bei Zusatz von normalem und von Blutegelkaninchenserum. Eine Verschiedenheit des Gehaltes an Kalksalzen ist also nicht vorhanden. Die folgende Tabelle zeigt die Resultate eines Versuches. Die einzelnen Reagensröhrchen wurden alle mit physiologischer Kochsalzlösung zu gleichem Quantum aufgefüllt.

A. Oxalatplasma + normales Kaninchenserum.

1)	1,0 c.c.	1,0 c.c.	schwache Gerinnung nach 12 Stunden.
2)	1,0 »	0,75 »	
3)	1,0 »	0,5 »	
4)	1,0 »	0,25 »	
5)	1,0 »	0,1 »	
6)	1,0 »	0,075 »	keine Gerinnung.
7)	1,0 »	0,05 »	
8)	1,0 »	0,025 »	
9)	1,6 »	0,01 »	
10)	1,0 »	0,0075 »	
11)	1,0 »	0,005 »	
12)	1,0 »	0,0025 »	

B. Oxalatplasma + Blutegelkaninchenserum.

1)	1,0 c.c.	1,0 c.c.	schwache Gerinnung nach 12 Stunden.
2)	1,0 »	0,75 »	
3)	1,0 »	0,5 »	
4)	1,0 »	0,25 »	
5)	1,0 »	0,1 »	
6)	1,0 »	0,075 »	keine Gerinnung.
7)	1,0 »	0,05 »	
8)	1,0 »	0,025 »	
9)	1,0 »	0,01 »	
10)	1,0 »	0,0075 »	
11)	1,0 »	0,005 »	
12)	1,0 »	0,0025 »	

Mehrfach wurden zu verschiedenen Zeiten vor und nach den Injectionen mit Blutegelextract Zählungen der weissen und der rothen Blutkörperchen des Kaninchens vorgenommen. Es ergab sich keine

(1) M. ARTHUS : *La coagulation du sang.* Scientia N° 5, Verl. GEORGES CARRÉ et C. NAUD, p. 76.

auffallende Vermehrung oder Verminderung dieser Zellen. HAYKRAFT (l. c.) constatiert auch, dass die Vitalität der weissen Blutkörperchen durch den Extract nicht angegriffen wird.

Eine Vermehrung oder Verminderung der Alkalescenz des Blutegelkaninchenserums gegenüber dem normalen konnte ich nicht nachweisen.

Die zuletzt angeführten Versuche, die für die gerinnungshemmende Wirkung des Blutegelkaninchenserums keine Erklärung brachten, würden an sich noch keineswegs per exclusionem zu der Annahme der Bildung eines Antikörpers berechtigen, da bei den so complicierten Vorgängen bei der Blutgerinnung noch eine Reihe von weiteren Factoren vorher in Rechnung zu ziehen wäre. Da es mir aber gelungen ist, einen directen Beweis durch die Bildung eines Antiantikörpers zu erbringen, so glaubte ich dieselben trotz ihrer Unvollständigkeit doch als eine weitere Stütze für meine Annahme der Bildung eines Antikörpers bei Injektion von Blutegelextract hier anführen zu dürfen.

Ergebnisse :

1) *Das Serum eines Kaninchens, welchem subcutan oder intraperitoneal Blutegelextract eingespritzt worden ist, übt eine abschwächende Wirkung auf den Blutegelextract aus.*

2) *Diese abschwächende Wirkung wird durch einen im Thierkörper gebildeten Antikörper hervorgebracht. Dafür spricht die Art der Entstehung und die Möglichkeit einen Antiantikörper zu erzeugen.*

3) *Die Bildungsstätten für den Antikörper sind in erster Linie das Pancreas, dann die Leber und die Nieren.*

Bonn, 15 September 1901.

Laboratoire de la clinique dermosyphilopathique de l'Université de Turin. (Dir. Prof. Giovannini).

Note sur un nouveau cytomètre

PAR

le Dr Edmond BUFFA,
assistant.

L'hémolysimètre(1) dont j'ai publié la méthode au commencement de cette année, exige qu'on puisse déterminer, avant et après l'opération, la quantité des globules rouges contenus dans le sang qu'on analyse. Comme je l'ai déjà expliqué dans cette première publication, toutes les méthodes de détermination sont bonnes. Quant à moi, je me suis servi du chromocytomètre du prof. Bizzozero, l'employant simplement comme cytomètre. L'emploi de ce petit instrument offrait l'avantage de pouvoir déterminer en même temps et la quantité approximative des globules rouges du sang et sa valeur hémoglobinique. Le principe sur lequel il est basé, répondait à toutes les exigences de mes recherches. Il ne permet certainement pas de déterminer le nombre des hématies, mais on peut par son usage obtenir un nombre dont les variations sont intimement liées à celles des hématies contenues dans le sang qu'on examine, de là la possibilité de pouvoir établir un rapport entre les divers échantillons de sang à examiner. On trouvera tous les détails sur cet instrument dans l'ouvrage de Bizzozero(2)

(1) E. Buffa : *La résistance des globules rouges du sang, une nouvelle méthode pour la mesurer.* Archiv. intern. de Pharmacodyn. et de Thérapie, volume VIII, fasc. III et IV; Archiv per le scienze mediche, vol. XXV, 4, p. 10.

(2) Bizzozero : Manuale di microscopia clinica.

qui, avec sa clarté habituelle, le décrit minutieusement et y explique la façon de s'en servir. Je n'en donnerai ici qu'un aperçu succinct indispensable pour faire comprendre ce qui suit et même je ne le décrirai que comme cytomètre, laissant à part tout ce qui regarde la chromométrie. Cet instrument consiste en un petit cylindre creux, bouché à une de ses extrémités par un verre, à l'autre s'adapte au moyen d'un pas de vis micrométrique un cylindre du même genre et, comme le premier, terminé par un verre à son extrémité inférieure. Les deux verres peuvent être amenés à un contact parfait, ou s'éloigner l'un de l'autre au moyen de la vis. Le sang examiné est introduit entre les deux verres, par un petit système très simple, et, prenant un point de repaire fixe, on cherche quelle est l'épaisseur du sang qui peut le faire voir sous un aspect déterminé. L'instrument est tenu à la main au moyen d'un manche, le point de repaire indiqué par l'auteur est la flamme d'une bougie placée à $1^{m}50$ et observée dans un endroit obscur, la graduation de l'instrument permet de mesurer une variation de 0,02 millim. dans l'épaisseur de la couche de sang. La détermination au moyen de cet instrument est rapide.

J'ai trouvé dans son emploi les inconvénients suivants : obligation absolue d'avoir une chambre obscure, et d'une certaine dimension, car la distance entre l'observateur et la flamme de la bougie servant de point de repaire, doit être de $1^{m}50$; de légères altérations dans les résultats au moindre mouvement de la flamme de la bougie, ce qui oblige à certaines précautions, qui souvent rendent la détermination plus longue; d'autres erreurs qui peuvent provenir facilement de la déviation de l'axe de l'instrument.

Un autre inconvénient assez grand est la fatigue que l'œil éprouve après quelques déterminations, fatigue qui peut empêcher de saisir le point exact où doit s'arrêter la détermination. Devant en faire certains jours jusqu'à 40, j'ai dû interrompre mon travail pour y intercaler des repos assez longs. Enfin la construction de l'instrument ne permet pas de le nettoyer facilement après chaque observation, et non sans exiger une perte de temps sérieuse, inconvénient très grave dans les recherches sur le sang, qui exigent toujours la propreté la plus scrupuleuse.

J'ai tâché de conserver au nouveau cytomètre, que M. KORISTKA a construit sur mes indications, toutes les qualités de l'instrument de BIZZOZERO, en atténuant le plus possible les défauts.

On opère avec la même rapidité; la quantité de sang nécessaire à la détermination n'est pas augmentée. Je me suis efforcé surtout de réunir les conditions indispensables pour en faire le plus possible un instrument

de précision, répondant aux exigences des études spéciales que j'ai entreprises sur le sang. J'ai supprimé la partie chromométrique, préférant employer à cet effet un des nombreux instruments existant.

La précision de l'instrument a été sensiblement augmentée par l'axe fixe de l'appareil, par l'adoption d'un système optique qui peut être réglé de façon à être adapté à la vue de n'importe quel observateur, par un choix de disques variés de repaire, transparents sur fond opaque, et opaques sur fond transparent, qui permet de vérifier et contrôler les résultats, écartant toute erreur pouvant provenir soit d'une sensation de fatigue, soit d'une différence dans la source lumineuse employée, enfin une graduation d'une précision absolue.

Les simplifications principales apportées par le nouvel appareil comprennent : la suppression de la chambre noire, la lumière solaire étant suffisante pour les déterminations ordinaires et par conséquent la suppression de tous les accessoires qu'exigeait la première méthode, ce qui donne la facilité de pouvoir exécuter les déterminations dans un laboratoire ou cabinet quelconque.

Les différentes pièces qui composent l'appareil destiné à recevoir le mélange de sang et de solution de chlorure de sodium sont facilement et rapidement démontables, ce qui permet de les entretenir dans un état de propreté rigoureuse.

Les dispositions générales de l'appareil permettent aussi d'opérer diverses déterminations sur le lait, et encore d'autres déterminations ainsi que le prouveront une série de recherches que je publierai avant peu, servant à obtenir la valeur mathématiquement exacte du degré de coloration des urines, élément calculé jusqu'à nos jours d'une façon fort peu précise et qui, considéré par rapport à la valeur d'un certain nombre d'autres genres de propriétés de ce produit, peut rendre des services importants.

Je ne m'arrête pas sur cet argument qui formera l'objet d'une étude spéciale, pour laquelle j'ai déjà réuni un nombre assez considérable de documents que je ne crois pas sans importance.

Description de l'Instrument.

Cet instrument est basé sur le même principe que le cytomètre de Bizzozero, c'est-à-dire détermine l'épaisseur de la couche de solution contenant le sang, à travers laquelle on peut observer un phénomène déterminé.

La forme générale adoptée pour mon instrument est celle d'un

microscope, il se compose d'un statif, d'un tube, d'un système optique et de différents accessoires.

Le statif est composé d'un pied et d'une colonne, munie à son extrémité supérieure d'une vis micrométrique, dont le disque gradué parcourt dans ses mouvements verticaux la longueur d'une tige fixée à la colonne et graduée en millimètres. Le disque qui sert à manœuvrer la vis micrométrique est divisé en 50 degrés, le pas de la vis est de 0,5 millim.; chaque division du disque correspond donc à 1/100 de millim. Nous trouvons ensuite fixé à la colonne du statif le système qui soutient un manchon métallique dans lequel le tube passe à frottement doux(1), comme dans les microscopes ce manchon est actionné par la vis micrométrique.

A quelques centimètres au dessous se trouve une platine en ébonite fixée et percée d'une large ouverture circulaire, destinée à recevoir le récipient contenant le mélange sanguin, la surface inférieure de la platine porte un disque métallique disposé excentriquement à la façon des disques à diaphragmes, percé de plusieurs trous circulaires dans lesquels s'adoptent de petits disques tantôt métalliques, tantôt en verre, sur lesquels sont tracées des figures transparentes ou mattes, qu'un mouvement rotatoire amène successivement sous l'axe du tube.

Entre la platine et le pied, se trouve enfin un miroir oscillant dans tous les sens. Une de ses faces est formée par un miroir concave, l'autre par une surface blanche et plane.

Dans le manchon passe à frottement doux un tube de construction spéciale. Il se compose de deux tubes fixés bout à bout; le supérieur, large et pouvant recevoir à une de ses extrémités le système oculaire, est vissé à sa partie inférieure à un autre tube de diamètre bien moindre qui, long de 4 centimètres environ, est lui-même bouché à son autre extrémité par un verre à faces rigoureusement parallèles. Ce dernier tube est destiné à pénétrer par frottement doux dans le récipient qui contient le liquide à examiner.

Le système optique qui s'adopte à l'extrémité supérieure du tube, combiné par M. KORISTKA, se compose de quatre lentilles simples, dont le foyer et les distances ont été combinés de façon à obtenir une image achromatique de l'objet qu'on observe tout en ayant une longue distance focale. La lentille inférieure du système, mobile, permet d'en régler la

(1) Cet instrument a été construit par Mr P. KORISTKA, de Milan; le nom seul du constructeur est une garantie du soin et de la précision avec lesquels a été exécutée chacune des parties.

distance, de façon à rendre nette la vision des objets, quelque soit la vue de l'observateur.

La construction spéciale de l'instrument permet d'obtenir une vision nette des objets, même avec des déplacements verticaux de 3 à 4 millimètres; mais comme dans le cytomètre, nous observons toujours l'objet à travers une nappe de liquide contenu entre deux plans parallèles, le plan de l'objet s'élèvera proportionnellement à l'indice de réfraction du liquide; d'autre part devant élever tout le système optique pour augmenter l'épaisseur de la nappe, jusqu'à la quantité nécessaire pour que l'objet disparaisse, les deux déplacements se compensent.

L'objet pourra donc être toujours vu d'une façon nette, et sa disparition dépendra de la seule épaisseur de la nappe de liquide interposé.

La dernière partie de l'appareil qui me reste à décrire, est le réservoir qui contient le liquide. Il se compose d'un anneau métallique dont le centre est occupé par un verre, sur cet anneau se visse un premier manchon métallique. Son ouverture supérieure possède un pas de vis qui permet d'en fixer un deuxième concentriquement.

Ce deuxième manchon, d'une longueur d'un demi millimètre en moins, est destiné à recevoir le tube inférieur décrit plus haut. Deux trous percés dans le haut du manchon extérieur permettent d'enlever ou d'abaisser l'ensemble des tubes, sans que la pression varie à l'intérieur du récipient.

Manière d'opérer.

On se procure le sang, nécessaire à la détermination, au moyen d'une simple piqûre faite à l'extrémité d'un doigt, ayant soin de ne négliger aucune des précautions voulues pour ces sortes d'opérations.

On mesure d'abord *exactement* un certain nombre de centimètres cubes de solution de chlorure de sodium à 0,70 °/₀, et à chaque centimètre cube de solution on ajoute 20 millimètres cubes de sang recueilli et exactement mesuré au moyen d'une pipette jaugée et adoptée à un tube de caoutchouc.

La quantité nécessaire de mélange pour une détermination est d'environ un demi centimètre cube.

On introduit une petite quantité de ce mélange dans le récipient de l'appareil, se souvenant que le sang mélangé à un liquide, tel qu'une solution de chlorure de sodium à 0,70 °/₀, a une grande tendance à se déposer sur le fond du vase, on aura toujours soin d'agiter le liquide avant de s'en servir; on devra encore l'agiter dans le recipient de l'appareil toutes les fois qu'on laisse passer un certain laps de temps avant d'opérer la détermination, ou bien que cette dernière opération dure trop longtemps,

On porte et on fixe le récipient sur la platine de l'instrument, dont on aura eu la précaution de ramener le o de la graduation micrométrique au o de l'échelle verticale.

On fait alors glisser doucement le tube jusqu'à ce qu'on obtienne le contact du verre qui se trouve à son extrémité inférieure avec celui qui forme le fond du récipient. Un trait marqué sur un des côtés du tube facilite cette opération. A ce moment tout le liquide est refoulé dans le compartiment circulaire extérieur du récipient.

On met au point le système optique, si on ne l'a fait avant, et on examine un des tests qu'on a amené par un mouvement rotatoire dans l'axe de l'instrument et qu'on a éclairé au moyen du miroir; on doit alors avoir une vision absolument nette de l'objet qu'on examine. Manœuvrant la vis micrométrique de gauche à droite (dans le sens contraire au mouvement des aiguilles d'une montre), nous verrons le liquide envahir peu à peu la chambre centrale du récipient, l'image observée devenir moins nette et enfin disparaître.

Le point auquel l'image disparait, est le point cherché.

On lit d'abord le chiffre indiqué par l'échelle verticale et on y ajoute les dégrés marqués par la vis micrométrique.

Les écrans qui portent les images qui servent de repaire sont de deux sortes : Les uns opaques avec des dessins transparents, les autres transparents avec des dessins opaques.

J'ai obtenu des résultats d'une grande précision avec les écrans opaques, en me servant des transparents pour les contrôles.

Si on examine un test opaque, à plusieurs rangs de figures circulaires transparentes, les espaces circulaires clairs deviennent de moins en moins précis, à mesure que la couche de liquide interposée augmente de hauteur; enfin le champ entier apparait tout clair avec une couronne centrale de disques plus brillants, le moindre mouvement de la vis micrométrique fait alors disparaître ce dernier détail.

L'observation successive de deux ou plusieurs écrans à dessins différents permet de fixer avec une grande exactitude le moment où l'on doit arrêter le mouvement de l'appareil et lire le résultat obtenu. La différence entre chaque détermination d'un même échantillon de sang ne doit pas dépasser une division de la vis micrométrique, c'est-à-dire 1/100 de millimètre de la hauteur de la couche de liquide.

Je me suis servi en général jusqu'à présent de la lumière solaire diffuse, et les indications que je donne plus loin, sont relatives à ce mode d'éclairage. Il est possible pourtant de se servir d'une source lumineuse

quelconque, pourvu que la lumière soit réfléchie au moyen d'écrans. Je compte m'occuper tout particulièrement de cet argument, car pour les opérations d'une grande précision, il est indispensable d'opérer avec un système d'éclairage toujours égal.

Il ne faut pas croire pourtant que les erreurs qu'on peut commettre en se servant de la lumière solaire diffuse soient très sensibles pourvu qu'on prenne quelques légères précautions. Elle pourra certainement servir dans tous les cas ordinaires.

J'ai entrepris une série de déterminations avec le sang des sujets sains. L'opération a été répétée plusieurs fois sur chaque échantillon de sang et j'ai toujours obtenu une valeur identique pour chaque détermination faite avec les différentes portions d'un même volume de mélange de sang et de solution de chlorure de sodium.

L'écart le plus fort que j'ai obtenu a été d'un degré, correspondant par conséquence à 1/100 de millimètre dans la hauteur de la couche de mélange, et cet écart a été assez rare pour me convaincre de la sûreté des résultats.

Chaque détermination, faite avec mon instrument, a été suivie immédiatement d'une série de déterminations du même échantillon de mélange avec l'instrument et selon la méthode de BIZZOZERO.

Je crois inutile d'ajouter que je me suis toujours scrupuleusement conformé aux indications données par cet auteur. Les chiffres des résultats m'étaient donnés par la moyenne d'une série de déterminations (toujours au moins de 3).

J'ai enfin employé différentes dilutions de mélange.

Toutes ces dernières expériences avaient pour but de fixer approximativement l'échelle de la graduation de mon instrument, en attendant d'avoir une longue série de déterminations qui me permettent de le faire directement.

Les différences entre les chiffres moyens des séries obtenues au moyen de l'instrument de BIZZOZERO, et les chiffres donnés par mon instrument, ont variées entre les deux limites 18 et 23.

La différence, établie par la moyenne d'une longue série d'expériences, a été de 20,1. Ayant de plus obtenu le plus grand nombre de fois une différence de 20 degrés, je fixerai pour le moment le taux normal du sang à 90°, correspondant à 100 d'hémoglobine.

J'ai tenu à établir cette relation entre les deux échelles des graduations des deux instruments, afin de rendre possible l'emploi des tables de correction que j'ai calculées pour l'instrument de BIZZOZERO et devant servir

pour l'hémolysimètre. Certes, la concordance ne sera pas absolument parfaite, mais puisque la valeur de cette correction est fonction de la quantité de l'hémoglotine contenue dans le sang, et est indépendante du degré cytométrique, l'erreur qu'on commettra sera encore inférieure à celle qu'on peut admettre pour les calculs courants.

Je publierai d'ailleurs avant peu les nouvelles tables de correction calculées expressément pour mon instrument.

Turin, septembre 1901.

Aus dem pharmakologischen Institut der kaiserlichen Universität zu Kyoto (Japan). Director Prof. K. Morishima.

Vergleichende Untersuchung über den Empfindlichkeitsgrad der Frösche und Kröten gegen einige Gifte

von

J. HONDA,
Assistent des Institutes.

Unter den Versuchsthieren, die wir für verschiedene physiologische und pharmakologische Zwecke anwenden, nimmt der Frosch den ersten Rang und geniesst somit die zweifelhafte Ehre, « das physiologische Hausthier » zu sein(1). Besonders an den beiden am meisten verbreiteten Arten, Rana esculenta und Rana temporaria, wurden schon unzählige Versuche angestellt, die sich sowohl auf die Wirkungsweise verschiedener Gifte als auch auf den Empfindlichkeitsgrad gegen die letztere beziehen. Wir wissen, dass selbst bei diesen benachbarten Froscharten das Verhalten der Giftwirkung manchmal sehr verschieden ist.

Dagegen ist die Kröte, die naturhistorisch dem Frosch nahe steht, sehr wenig in solcher Beziehung, und zwar nur bei einzelnen Fällen untersucht. Es fehlt noch an exakter Angabe, wie gross ihr Empfindlichkeitsgrad gegen die Gifte ist und wie sich derselbe gegen den des Frosches verhält. Bekanntlich stehen die Giftdosen, die gleichen Grad der Wirkung hervorrufen, bei denselben Thierarten in direkter Proportion, mit dem Körpergewicht. Bei verschiedenen Thierarten scheinen aber die Disposition für die Giftwirkung verschieden zu seln. Vom vergleichend toxikologischen

(1) Ecker-Gaupp : Anatomie des Frosches. Braunschweig, 1896, p. 1.

Standpunkt aus schien es mir also nicht ohne Interesse, die Empfindlichkeit dieser beiden Thierarten gegen einige Gifte zu vergleichen, zumal, da die gemeine Kröte in Japan leicht zugänglich ist und manchmal ein ansehnliches Körpergewicht von über 1/4 Kilo erreicht, so dass sie für gewisse Zwecke vortheilhaft an Stelle des Frosches angewandt werden kann. In Folgendem werde ich meine Untersuchungen in gedrängter Kürze mittheilen.

Für meinen Zweck war die Wahl der Gifte von grosser Wichtigkeit. Sie müssen erstens eine deutliche, ihnen charakteristische, Erscheinung hervorrufen und zweitens zwischen normalen und Vergiftungsstadien eine scharfe Grenze geben, um die minimale Wirkungsdosis der Gifte genau angeben zu können. Ich habe also zwei Krampfgifte, Strychnin und Pikrotoxin, und Helleborein, benutzt, welche den oben angegebenen Anforderungen am meisten entsprechen.

Die Versuchsthiere waren einerseits der in Japan einheimische Grasfrosch, Rana esculenta L. var. japonica Gthr., und anderseits die gemeine Kröte, Bufo vulgaris Laur. Es wurde dabei ausschlieslich das Männchen angewandt, weil das Gewicht des Eierstocks besonders in der Laichzeit beträchtlich grösser als das des Hodens ist und der etwaige Unterschied der Resultate zwischen beiden Geschlechtern befürchtet wird.

Beide Krampfgifte wurden von der Mundhöhle tief in den Brustlymphsack und die Herzgifte bei blossgelegtem Herzen in den hinteren Lymphsack des Oberschenckels hineingespritzt.

Die Lösungen wurden in solcher Concentration hergestellt, dass die einmalige Gabe bei Fröschen 1 c.c. und bei Kröten 2 c.c. nicht überschreitet.

Es sei noch bemerkt, dass alle diese Versuche im Mai ausgeführt wurden, weil solche Thiere mit Winterschlaf je nach den Jahreszeiten von verschiedenem physiologischem Verhalten sein können.

I. Salpetersaures Strychnin.

Die charakteristische Erscheinung, welche das Strychnin an Thieren hervorruft, ist der Tetanus, welcher durch stark gesteigerte Reflexerregbarkeit des Rückenmarcks bedingt wird. Ich gab den Thieren verschiedene Giftdosen und beobachtete, ob dabei Tetanus vorkommt oder nicht. Die bei schon sehr kleinen Dosen beobachtete Reflexerhöhung, welche nicht bis zum allgemeinen Krampf stieg, wurden nicht berücksichtigt. Jeder Versuch dauerte bis zu 4 Stunden. Die Resultate waren folgende :

A. — *Rana esculenta.*

Versuchs-nummer	KÖRPERGEWICHT in Gr.	SALPETERSAURES STRYCHNIN		TETANUS vorhanden (+) oder nicht (—)
		in Milligr.	pro Gr. Thier in Milligr.	
1	32,9	0,070	0,0021	+ nach 10′
2	12,0	0,025	0,0021	+ » 1 h. 25′
3	11,1	0,0225	0,0020	+ » 55′
4	11,5	0,0225	0,0019	+ » 22′
5	25,9	0,0500	0,0019	+ » 25′
6	29,5	0,0525	0,0018	+ » 55′
7	11,7	0,0200	0,0017	+ » 51′
8	9,8	0,0150	0,0015	+ » 1 h. 25′
9	13,1	0,0200	0,0015	—
10	26,3	9,0400	0,0015	+ nach 55′
11	10,2	0,0150	0,0015	—
12	34,5	0,0500	0,0014	+ nach 20′
13	11,0	0,0150	0,0014	—
14	10,9	0,0125	0,0011	—
15	9,2	0,0100	0,0011	—
16	9,9	0,0100	0,0010	—
17	14,6	0,0150	0,0010	—
18	22,8	0,0225	0,0009	—
19	11,5	0,0100	0,0009	—
20	26,0	0,0225	0,0009	—
21	26,9	0,0225	0,0008	—
22	22,8	0,0175	0,0008	—
23	26,5	0,0175	0,0006	—
24	11,5	0,0050	0,0004	—
25	11,2	0,0050	0,0004	—

B. — *Bufo vulgaris.*

Versuchs-nummer	KÖRPERGEWICHT in Gr.	SALPETERSAURES STRYCHNIN		TETANUS vorhanden (+) oder nicht (—)
		In Milligr.	pro Gr. Thier in Milligr.	
1	144,0	0,27	0,0019	+ nach 2 h. 51′
2	90,0	0,15	0,0017	+ » 48′
3	92,0	0,15	0,0016	+ » 1 h. 48′
4	219,0	0,35	0,0016	—
5	126,0	0,20	0,0016	—
6	128,0	0,25	0,0016	—
7	168,0	0,20	0,0015	—
8	143,0	0,20	0,0014	—
9	109,0	0,15	0,0014	—
10	123,0	0,15	0,0012	—
11	126,0	0,15	0,0012	—

Die minimale Dosis des salpetersauren Strychnins, welche Tetanus hervorrufen kann, ist also bei Rana esvulenta 0,0014—0,0015 Milligr. pro Gr. Thier und bei Bufo vulgaris 0,0016 Milligr. pro Gr. Thier.

II. Pikrotoxin.

Das typische Vergiftungssymptom des Pikrotoxins ist hauptsächlich der durch Reizung des sog. Krampfcentrums bedingte spontane Krampf des ganzen Skelettmuskels. Das Zustandekommen der allgemeinen Krämpfe

haben wir also als Mass der Vergiftung genommen. Alle Thiere wurden 3 Stunden lang beobachtet. Nachstehend geben wir die Resultate wieder.

A. — *Rana esculenta.*

Versuchs-nummer	KÖRPERGEWICHT in Gr.	PIKROTOXIN		ALLGEMEINE KRÄMPFE vorhanden (+) oder nicht (—)
		in Milligr.	pro Gr. Thier in Milligr.	
26	11,9	0,075	0,0063	+ nach 1 h. 20'
27	29,1	0,175	0,0060	+ » 1 h. 15'
28	25,9	0,150	0,0058	+ » 2 h. 30'
29	23,8	0,125	0,0052	+ » 2 h. 30'
30	10,2	0,050	0,0049	+ » 1 h. 38'
31	25,5	0,125	0,0049	—
32	16,0	0,075	0,0047	—
33	35,8	0,150	0,0042	—
34	32,7	0,125	0,0038	—
35	27,4	0,075	0,0027	—

B. — *Bufo vulgaris.*

Versuchs-nummer	KÖRPERGEWICHT in Gr.	PIKROTOXIN		ALLGEMEINE KRÄMPFE vorhanden (+) oder nicht (—)
		in Milligr.	pro Gr. Thier in Milligr.	
12	272,0	2,75	0,0101	+ nach 1 h. 25'
13	100,0	1,00	0,0100	+ » 1 h. 24'
14	104,0	1,00	0,0096	+ » 1 h. 55'
15	156,0	1.45	0,0093	—
16	108,0	1,00	0,0093	+ » 2 h. 19'
17	111,0	1,00	0,0090	+ » 1 h. 36'
18	115,0	1,00	0,0087	—
19	141,0	1,20	0,0085	—
20	106,0	0,90	0,0085	—
21	142,0	1,20	0,0085	—
22	166,0	1,40	0,0084	—
23	162,0	1,30	0,0080	—
24	132,0	1,00	0,0076	—
25	125,0	0,90	0,0072	—
26	84,0	0,60	0,0071	—
27	128,0	0,90	0,0070	—
28	146,0	1,00	0,0068	—

Die minimale Dosis des Pikrotoxins, welche die allgemeinen Krämpfe hervorrufen kann, ist also bei Rana esculenta 0,0049 Milligr. pro Gr. Thier und bei Bufo vulgaris 0,0090—0,0096 Milligr. pro Gr. Thier.

III. Muscarin.

Als Mass der Muscarinwirkung haben wir solchen Grad der Vergiftung genommen, wo das Herz gerade in den vollständigen diastolischen Stillstand gelangt. Unser Muscarin war ein künstlich dargestelltes und stammte von der Firma Dr G. GRÜBLER & Co in Leipzig. Nach BOEHM(1) : « Die

(1) BOEHM : Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XIX, S. 94, 1885.

Wirkungen beider künstlicher Muscarine waren sehr intensiv. Bei Fröschen bewirkten 0,0005 gr. alsbald completen diastolischen Stillstand, u. s. w. » Solche Thiere, deren Herz nach 7 Stunden noch in Bewegung ist, werden in der letzten Columme der Tabelle mit « — » bezeichnet.

A. — *Rana esculenta.*

Versuchs-nummer	KÖRPERGEWICHT in Gr.	MUSCARIN		DIASTOLISCHER HERZSTILLSTAND vorhanden (+) oder nicht (—)
		in Milligr.	pro Gr. Thier in Milligr.	
36	10,4	0,40	0,038	+ nach 20'
37	14,0	0,40	0,028	+ » 15'
38	8,5	0,20	0,023	+ » 12'
39	10,4	0,24	0,023	+ » 15'
40	9,0	0,20	0,022	—
41	14,5	0,30	0,021	+ nach 15'
42	30,5	0,60	0,019	—
43	10,3	0,20	0,019	—
44	10,5	0,20	0,019	+ nach 35'
45	25,0	0,45	0,018	+ nach 3 h. 10'
46	11,5	0,20	0,017	—
47	23,2	0,40	0,017	+ nach 1 h. 24'
48	26,0	0,45	0,017	+ » 6 h. 20'
49	23,6	0,40	0,017	+ » 2 h.
50	21,0	0,35	0,017	—
51	27,2	0,45	0,016	+ nach 3 h. 6'
52	24,2	0,40	0,016	—
53	27,2	0,45	0,016	—
54	24,4	0,40	0,016	—
55	24,5	0,40	0,016	—
56	9,1	0,14	0,015	+ nach 30'
57	21,2	0,32	0,015	—
58	29,6	0,45	0,015	—
59	29,7	0,45	0,015	—
60	26,4	0,40	0,015	—
61	18,4	0,28	0,015	+ nach 27'
62	10,0	0,14	0,014	+ » 55'
63	12,4	0,18	0,014	—
64	28,2	0,40	0,014	—
65	10,8	0,15	0,014	—
66	11,4	0,15	0,013	—
67	13,9	0,17	0,012	+ nach 1 h. 50'
68	23,8	0,30	0,012	—
69	8,3	0,10	0,012	—
70	10,5	0,13	0,012	—
71	10,6	0,13	0,012	+ nach 1 h.
72	10,7	0,13	0,012	+ » 1 h. 20'
73	30,4	0,35	0,011	—
74	18,8	0,20	0,011	—
75	12,0	0,12	0,010	—
76	10,9	0,10	0,009	—
77	11,7	0,10	0,008	—
78	16,4	0,10	0,006	—
79	9,0	0,05	0,006	—
80	9,5	0,05	0,005	—
81	10,2	0,05	0,005	—
82	12,0	0,05	0,004	—
83	12,6	0,05	0,004	—
84	8,8	0,02	0,002	—

B. — *Bufo vulgaris.*

Versuchs-nummer	KÖRPERGEWICHT in Gr.	MUSCARNE in Milligr.	pro Gr. Thier in Milligr.	DIASTOLISCHER HERZSTILLSTAND vorhanden (+) oder nicht (—)
29	71,0	4,0	0,050	+ nach 25′
30	185,0	7,5	0,041	+ » 25′
31	138,0	5,0	0,036	+ » 24′
32	60,9	1,8	0,029	+ » 1 h. 25′
33	186,0	5,0	0,027	+ » 24′
34	37,6	1,0	0,027	—
35	47,5	1,2	0,025	+ nach 5 h.
36	64,0	1,6	0,025	+ » 5 h.
37	62,0	1,4	0,023	—
38	181,0	4,0	0,022	—
39	145,0	3,0	0,021	+ nach 1 h. 45′
40	33,5	0,6	0,018	—
41	61,0	1,0	0,016	—
42	52,5	0,7	0,013	—

Die minimale Dosis des Muscarins, welche den vollständigen diastolischen Herzstillstand hervorrufen kann. ist also bei Rana esculenta 0,012—0,023 Milligr. pro Gr. Thier und bei Bufo vulgaris 0,021—0,027 Milligr. pro Gr. Thier.

IV. Helleboreïn.

Dieses der Digitalingruppe angehörige Glucosid verursacht an Thieren zuerst eine Pulsverlangsamung, dann eine unregelmässige wellenförmige Bewegung der Kammer, die man Herzperistaltik nennt, und endlich einen dauernden systolischen Stillstand des Herzventrikels. In der folgenden Tabelle werden die Resultate bei verschiedenen Dosen zusammengestellt. Jede Beobachtung dauerte 10 Stunden lang.

A. — *Rana esculenta.*

Versuchs-nummer	KÖRPERGEWICHT in Gr.	HELLEBOREÏN in Milligr.	pro Gr. Thier in Milligr.	SYSTOLISCHER HERZSTILLSTAND vorhanden (+) oder nicht (—)
85	44,7	3,00	0,066	+ nach 13′
86	11,5	0,75	0,065	+ » 13′
87	11,8	0,75	0,065	+ » 12′
88	16,9	1,00	0,059	+ » 12′
89	9,2	0,50	0,054	+ » 10′
90	9,8	0,50	0,051	+ » 10′
91	10,2	0,50	0,049	+ » 10′
92	15,6	0,10	0,006	+ » 1 h. 30′
93	10,2	0,05	0,005	+ » 4 h. 27′
94	28,7	0,14	0,005	+ » 8 h. 40′
95	26,5	0,12	0,005	+ » 4 h. 30′
96	20,2	0,09	0,004	+ » 4 h.
97	11,4	0,05	0,004	+ » 4 h. 36′
98	30,2	0,13	0,094	+ » 8 h. 40′
99	11,7	0,05	0,004	+ » 4 h. 30′
100	24,1	0,10	0,004	+ » 9 h, 40′

Versuchs-nummer	KÖRPERGEWICHT in Gr.	HELLEBOREÏN in Milligr.	HELLEBOREÏN pro Gr. Thier in Milligr.	SYSTOLISCHER HERZSTILLSTAND vorhanden (+) oder nicht (—)
101	38,3	0,15	0,004	+ nach 1 h. 58′
102	32,5	0,10	0,004	—
103	27,8	0,10	0,004	—
104	27,9	0,10	0,004	—
105	24,9	0,09	0,004	—
106	28,9	0,10	0,004	—
107	35,3	0,12	0,003	—
108	27,0	0,09	0,003	—
109	30,4	0,10	0,003	—
110	24,6	0,08	0,003	—
111	25,7	0,08	0,003	—
112	33,5	0,10	0,003	—
113	42,2	0,13	0,003	—
114	30,4	0,09	0,003	—
115	34,6	0,10	0,003	—
116	36,5	0,10	0,003	—
117	30,1	0,08	0,003	—
118	11,2	0,03	0,003	—
119	32,4	0,08	0,002	—

B. — *Bufo vulgaris.*

Versuchs-nummer	KÖRPERGEWICHT in Gr.	HELLEBOREÏN in Milligr.	HELLEBOREÏN pro Gr. Thier in Milligr.	SYSTOLISCHER HERZSTILLSTAND vorhanden (+) oder nicht (—)
43	53,0	25,0	0,4714	+ nach 1 h. 57′
44	66,0	20,0	0,3030	+ » 6 h. 15′
45	103,0	30,0	0,2912	+ » 4 h. 1′
46	25,0	7,0	0,2800	+ » 50′
47	29,0	8,0	0,2758	+ » 2 h. 15′
48	74,0	20,0	0,2702	+ » 2 h. 5′
49	153,0	40,0	0,2614	+ » 6 h. 30
50	115,0	30,0	0,2608	+ » 6 h. 3′
51	80,0	20,0	0,2500	+ » 1 h. 25′
52	82,0	20,0	0,2439	+ » 4 h.
53	46,0	10,0	0,2174	—
54	97,0	20,0	0,2061	+ nach 6 h. 30′
55	97,0	20,0	0,2061	+ » 5 h.
56	77,0	15,0	0,1948	—
57	54,0	10,0	0,1851	+ nach 6 h. 10′
58	95,0	15,0	0,1578	—
59	67,0	10,0	0,1492	—
60	157,0	20,0	0,1273	—
61	80,0	10,0	0,1250	—
62	82,0	10,0	0,1219	—
63	281,0	20,0	0,0711	—
64	191,0	8,0	0,0418	—

Die minimale Dosis des Helleboreïns, welche den dauernden systolischen Stillstand des Herzventrikels hervorrufen kann, ist also bei Rana esculenta 0,004 Milligr. pro Gr. Thier und bei Bufo vulgaris 0,1851—0,2439 Milligr. pro Gr. Thier.

Stellen wir die Resultate zusammen, so bekommen wir folgende Tabelle. Die Zahlen geben die minimalen Dosen, die bei Strychnin

Tetanus, bei Pikrotoxin allgemeinen Krampf, bei Muscarin diastolischen und bei Helleboreïn systolischen Herzstillstand hervorrufen, in Milligr. auf 1 Gr. Thier berechnet, an.

	RANA ESCULENTA	BUFO VULGARIS
Strychnin . .	0,0014—0,0015	0,0016
Pikrotoxin . .	0,0049	0,0090—0,0096
Muscarin . .	0,012—0,023	0,021—0,0027
Helleboreïn. .	0,004	0,185—0,2439

Nehmen wir den Werth für Frosch als 1 an, so bekommen wir folgende Zahlen, die die Verhältnisse der Empfindlichkeit beider Thierarten gegen die Gifte noch deutlicher vergegenwärtigen.

	RANA ESCULENTA	BUFO VULGARIS
Strychnin . .	1	1,1
Pikrotoxin . .	1	1,9
Muscarin . .	1	1,4
Helleboreïn. .	1	53,6

Ergebnisse : 1. *Bei Strychnin, Pikrotoxin und Muscarin ist der Unterschied des Empfindlichkeitsgrades zwischen Rana esculenta und Bufo vulgaris nur unbeträchtlich. Zum Hervorbringen desselben Vergiftungsgrades bedarf das letztere etwas grösserer Dosis der Gifte als das erstere.*

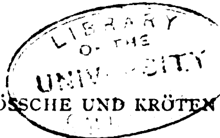
2. *Bei Helleboreïn besteht ein grosser Unterschied des Empfindlichkeitsgrades zwischen beiden Thierarten. Die Kröten ertragen über 50 mal so grosse Giftmenge als die Frösche.*

Es fragt sich nun, wie diese letztgenannte merkwürdige Thatsache erklärt wird. Darüber existieren ja schon mehrere Angaben, die wir zunächst kurz berühren wollen.

Es ist schon von Alters her bekannt, dass die Kröte von ihren Hautdrüsen eine giftige Flüssigkeit, Krötengift, secernirt(1). Sie soll früher auch als ein Mittel gegen Wassersucht angewandt worden sein(2). Die

(1) Gratiolet u. Cloez : Fror. Tagesber. 370, 1851, refer. in Schmidt's Jahrbücher, Bd. 73, S. 166, 1852. Vulpian : Gaz. méd. de Paris, no 4, Janvier 1855, refer. in Canstatt's Jahresber. 1855, Bd. 5. S. 134. Carron du Villards : Ann. d'Oc. Juin et Août 1855, refer. in Schmidt's Jahresber. Bd. 89, S. 233, 1856.

(2) Cfr. : Schmidt's Jahresber. Bd. 8, S. 168, 1835.



chemische Untersuchung hat uns gelehrt, dass das Gift neben einigen Substanzen von untergeordneter Bedeutung, wie Methylcarbylamin, Isocyanessigsäure etc. (1), einen sehr giftigen alkaloidischen Körper enthält, welcher zuerst Bufidin, später Phrynin genannt wurde (2). Es wurde gefunden, dass der Körper bei Fröschen unter andern Symptomen in sehr rapider Weise Stillstand des Herzventrikels bedingt, während die Respiration noch einige Zeit anhält. Jetzt steht soweit fest, dass das Phrynin local an der Applikationsstelle eine starke Irritation ausübt und am Herzen typischen Stillstand in Systole verursacht, wie die Substanzen der Digitalingruppe (3). Dass aber die Wirkung des Krötengiftes von derer der letzteren ziemlich entfernt ist, ersieht man aus der KUNKEL'schen Angabe (4); er sagt nämlich, dass : « Der Auszug der fein zerschnittenen Haut von Bufo variabilis bei Einfliessenlassen ins isolirte, mit richtiger Nährlösung gespeiste Froschherz typische Stillstellung in Systole machte. Der ganze Frosch mit kleinen Mengen des Hautauszuges vergiftet, bekam deutliche Streckkrämpfe, Würgen, schliesslich Lähmung. Das Herz schlug hier noch lange langsam weiter. »

Wie in den analogen Fällen scheint die Kröte gegen eigenes Gift immun zu sein. VULPIAN (5) giebt an, dass das Krötengift den Kröten selbst sowohl bei innerlicher als auch subcutaner Applikation keinen Schaden bringt. Auch nach FORNARA (6) ist das Gift für Kröten selbst ungiftig, wobei es gleichgültig ist, von welcher Species es genommen wurde.

Diese Thatsache hängt sehr wahrscheinlich von dem Giftgehalte des Blutes ab (7). Dass die dauernde Berührung mit dem Gifte die Empfindlichkeit der Gewebe herabsetzen kann, kann aus der Analogie wohl

---

(1) G. CALMELS : Compt. rend., 98, 536; 56; XXIII. Heft. 7, p. 606, refer. in BECKURTS's Pharmaceut. Jahresber. Bd. XVIII u. XIX, S. 1185, 1883 u. 1884.

(2) D. FORNARA : Rivista clinica di Bologna. Ottobre, p. 297, refer. in VIRCHOW u. HIRSCH's Jahresber. Bd. 8, I; S. 407, 1873 — auch in Jaresber. ü. d. Fortschr. d. Thierchemie, III, S. 64, 1873 und pharmaceutische Jahresbericht, Bd. VIII, 1873, S. 598. Derselbe : Journ. de thérap., 23, p. 882, refer. in VIRCHOW u. HIRSCH's Jahresber. Bd. 12, I, S. 741, 1877.

(3) Nach KOBERT : « *Von thierischen Substanzen besitzt das Phrynin unzweifelhaft digitalinartige Wirkungen.* » Lehrbuch der Intoxikationen, Stuttgart, 1893, S. 687.

(4) KUNKEL : Handbuch der Toxikologie, 2. Hälfte, Jena, 1901, S. 1080.

(5) VULPIAN : Gaz. méd. de Paris, n° 4, janvier 1855, refer. in CANSTATT's Jahresber., 1855, Bd. 5, S. 134.

(6) FORNARA : Rivista clinica di Bologna. Ottobre, p. 297, refer. in VIRCHOW und HIRSCH's Jahresber., Bd. 8, I, S. 407, 1873.

(7) Vergl. KOBERT : Compendium der pract. Toxikologie. Stuttgart, 1894, S. 90.

geschlossen werden. Die Angaben von KOBERT(1), dass die Krötenlarve, die noch kein Gift secernirt, ebenso empfindlich gegen Krötengift ist, wie Froschlarve, bestätigt auch diese Annahme.

Was aber sehr interessant ist, ist die Thatsache, dass die Kröte gegen die dem Krötengifte ähnlich wirkenden Substanzen, unempfindlich ist. VULPIAN(2) sagt, dass die Kröten mit 10 mal soviel Digitalin vergiftet, als bei Fröschen, ganz unversehrt bleiben. Die Herzen schlugen dabei selbst nach 24 Stunden ganz regelmässig fort. KOBERT(3) behauptet noch, dass bei Durchströmung von Kröten mit Helleboreïn-haltigem Blut keine Veränderung der Strombreite der peripheren Gefässe eintrat, was bei der Durchströmung von Fröschen der Fall war.

Meine Resultate, die ich bei Helleboreïnversuchen bekam, bestätigen also die letztgenannten Angaben in vollem Masse und wir wissen jetzt, dass die Kröte gegen die Helleboreïn 50 mal resistenter ist, als der Frosch, was sehr wahrscheinlich von dem Phryningehalt des Krötensekretes abhängig ist.

Kyoto, im September 1901.

---

(1) KOBERT : Archiv f. exp. Pathol. und Pharmakol., Bd. XXII, p. 104. 1887.

(2) VULPIAN : Gaz. méd. de Paris, nº 35, p. 559, refer. in CANSTATT's Jahresber., 1855, Bd. 5, S. 112.

(3) KOBERT : Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XXII. p. 104, 1887.

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT BONN.

Die Reduktion des Natriumnitrats im Tierkörper

VON

C. BINZ und P. GERLINGER.

Eine Doctordissertation aus dem pharmakologischen Institut zu Bonn vom Jahre 1879 trug den Titel : « ADOLF BARTH (1), Toxikologische Untersuchungen über Chilisalpeter ». Veranlasst war die Untersuchung durch eine Massenvergiftung von Rindern, die Chilisalpeter gefressen hatten. Das neue Hauptergebnis war :

Der an und für sich ungiftige Chilisalpeter geht nicht unverändert durch den Körper, sondern wird zum Teil zu salpetrigsaurem Natrium reduziert, das schon in verhältnissmässig kleinen Gaben ein starkes Gift ist.

Der Satz von der Reduktion des Chilisalpeters im Tierkörper fand im allgemeinen wenig Zustimmung. Das war zum Teil die Folge einer ihn verneinenden, oberflächlich angestellten und ebenso weitergegebenen Nachuntersuchung (2). Die meisten Hand- und Lehrbücher der Toxikologie verwerfen jenen Satz noch heute. Hier nur die zwei neuesten :

« Das *salpetersaure Natron,* $NaNO_3$, der *Chilisalpeter,* als Düngemittel verwandt, hat schon häufig bei Haustieren zu schweren Vergiftungen geführt. Für den Menschen gilt es als ziemlich harmlos. Seine Wirkungen sind im Wesentlichen als *Natronsalzwirkungen* aufzufassen, auffallend ist die ausserordentlich schnelle Resorption des Salzes vom Magen aus. » (KIONKA, Grundriss der Toxikologie, 1901, 186.)

« Von BARTH (Toxikologische Untersuchungen über den Chilisalpeter,

---

(1) Gegenwärtig Universitätsprofessor zu Leipzig.

(2) Citiert von F. STOCKVIS, Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol., XXI, 214.

Bonn, 1879) ist die Ansicht ausgesprochen worden, dass der Chilisalpeter durch eine Verunreinigung mit *Nitrit* ($NaNO_2$) und durch Umwandlung des Nitrats im Körper zu Nitrit giftig wirke. Meine eigenen diesbezüglichen Untersuchungen (Repertorium 1880) haben ergeben, dass der chemisch reine, nitritfreie Natronsalpeter ebenso stark oder noch stärker wirkt, als der unreine, zuweilen nitrithaltige Düngersalpeter. Es schliesst ferner der peracute Verlauf der Salpetervergiftung eine vorhergehende Umwandlung des Nitrats in Nitrit innerhalb des Körpers aus. Endlich lässt sich bei der Durchsicht der einschlägigen Litteratur nachweisen, dass immer grosse Mengen von Chilisalpeter (250—2500 gr.) aufgenommen wurden, so dass die betreffenden Vergiftungen auf eine reine Salpeterwirkung zurückgeführt werden müssen. » (Fröhner, Lehrbuch der Toxikologie für Tierärzte, 2. Aufl., 1901, 109.)

Zuerst ein kurzer Rückblick auf die Versuche von A. Barth.

Er prüfte die Giftigkeit des Natriumnitrats für sich und im Vergleich mit Natriumchlorid und Natriumsulfat. Dabei fand er, dass das Natriumnitrat im Warmblüter reduziert wird, und zwar sah er das in 13 Versuchen, worin er darauf achtete, 7 mal. 6 mal blieb die Reaktion aus. Es war die althergebräuchliche mittels reinem Jodid, Stärkekleister und einer reinen Mineralsäure. Das Aufsuchen des Nitrits geschah im frischen Harn und im Darmkanal.

In diesen Versuchen war das Nitrat 10 mal subcutan und 3 mal vom Magen aus gegeben worden.

Barth hebt S. 25 und 26 ausdrücklich hervor, dass die Abwesenheit der Reaktion auf freies Jod kein Beweis sei für die Abwesenheit der Reduktion. Er brauchte nur eine Lösung von Nitrit in Wasser, die beim Zusatz von Jodkaliumkleister und verdünnter Säure sofort blaugefärbt wurde, mit einem Stückchen Darm zu schütteln oder mit frischem Speichel zu mengen, um die Färbung durch das freigewordene Jod ganz zu verhindern.

Ferner : In Aethernarkose wurden am Dünndarm drei leergestrichene Stücke von etwa 4 cm. abgebunden. In das erste wird eingespritzt 1 c.c. einer 10-procentigen Nitratlösung, in das dritte ebensoviel einer Natriumsulfatlösung, in das mittlere nichts. Der Darm wird vorsichtig zurückgelegt, das Tier warm gelagert und nach einer Stunde getötet. — Das Darmstück mit dem Natriumsulfat war nicht mehr ganz so prall wie gleich nach der Einspritzung, das mittlere war ganz leer, das mit dem Nitrat war praller geworden. Beide Salze hatten die Schleimhaut geschwellt, aber das Natriumsulfat ohne Entzündung, während sie beim Nitrat stark entzündet

und ekchymosiert war. Der Inhalt dieser Darmschlinge reagierte sofort auf *Nitrit,* während im Harn noch nichts nachzuweisen war.

Dieser Versuch wurde mit Nitrat noch 3 mal wiederholt; 2 mal davon waren die Nitratlösungen nur 1- oder 2procentig. Beidemal erschien Nitrit, jedoch weniger stark.

Um zu sehen, ob der *Darminhalt* des Tieres an der Nitritbildung beteiligt sein könne, wurde angesetzt :

Drei Proben Kartoffeln, Hafer und Endivienblätter, zerrieben und jedes für sich in ein Glas gethan und mit 25 c.c. einer 1-procentigen Lösung von Nitrat umgeschüttelt. Jede Probe wird in zwei Teile geteilt, wovon der einen im warmen Zimmer stehen bleibt, der andere in den Brütofen von 39° gestellt wird. Nach 5 Stunden gaben diese alle drei sofortige Reaktion auf Nitrit, die stärkste der Hafer. In den drei anderen Proben war auch am nächsten Morgen noch keine Färbung des Reagens zu bemerken.

Ein weiterer Versuch zeigte, dass der Vorgang der Reduktion in alkalischer oder neutraler Lösung besser geschieht als in salzsaurer.

Auch mit Kalbs- oder Kaninchenblut gemischt und in den Brütofen gestellt, verwandelte sich das Nitrat zu Nitrit in wenigen Stunden. Das *Blut* wurde braun und färbte sich beim Schütteln mit Luft nicht wieder rot.

Das ein Teil des Inhalts der 33 von A. Barth mitgeteilten Versuche. Mittlerweile sind andere erschienen, die sie in der Hauptsache bestätigen, ohne sie zu nennen. F. Röhmann, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1881, V., 233 *(Ueber die Ausscheidung von Salpetersäure und salpetriger Saüre)* sagt unter anderm :

« Es gab der Speichel eines Knaben von 1 1/2 Jahr, welcher eines Bronchialkatarrhs wegen in seiner Arznei Natrium nitricum bekam und davon 7 Stunden vor der Untersuchung zum letzten Male genommen hatte, eine sehr intensive Reaktion auf angesäuerten Jodkaliumstärkekleister.

» Ganz analog dem Speichel verhält sich der durch Pilocarpin gewonnene Schweiss. Auch hier findet sich häufig salpetrige Säure. In einem Falle, wo, wie ich mich wiederholt überzeugt hatte, der Speichel und Schweiss frei von salpetriger Säure war, trat dieselbe in beiden auf nach Eingabe von salpetersaurem Kalium. Alles dies beweist, dass die salpetrige Säure im Schweiss und Speichel aus der eingeführten Salpetersäure, vermutlich in den Drüsen selbst entsteht » (S. 238).

Ferner entnehmen wir den Versuchen Röhmann's folgende Schlüsse :

« Ein Teil der Salpetersäure wird also unverändert, ein Teil der

salpetrigen Säure als Salpetersäure ausgeschieden. Viel wichtiger ist aber die andere Thatsache, welche durch obige Versuche festgestellt ist, dass von der eingeführten Salpetersäure und salpetrigen Säure ein sehr grosser Teil nicht ausgeschieden, sondern im Körper reduziert wird. Bei dieser Reduktion kann sich nur Ammoniak oder vielleicht durch Vermittelung von salpetrigsaurem Ammoniak Stickstoff bilden. » (S. 242.)

Auch daraus würde hervorgehen, dass das Nichtvorhandensein der Nitritreaktion bei mehreren Versuchen noch lange nicht beweisst, dass nun auch kein Nitrit vorhanden war.

Wir wiederholten die Versuche BARTH's mit ähnlich wechselndem Erfolge wie er. Bei 11 Kaninchen, die das Nitrat teils von der Haut, teils vom Magen aus bekamen, zeigte sich Nitrit 4 mal im *frischen* Harn. Auch hier wurde der Nachweis nur mittels der Jodprobe geführt. Die Abwesenheit der Reaktion in 7 Fällen widerlegt also nichts.

Liessen wir den Harn eines gesunden Tieres nach Zusatz von ein wenig Nitrat im Zimmer stehen und suchten dann nach Nitrit, so zeigten sich die Anfänge der Jodreaktion erst nach *mehreren* Tagen, wenn Fäulnis eingetreten. War das Gemisch vorher durch Kochen gut sterilisiert worden, so entstand die Jodreaktion überhaupt nicht.

NEUESTE VERSUCHSREIHE.

In ihr wurde zum qualitativen Nachweis des Nitrits nicht mehr die unsichere Jodprobe — direkte Versuche mit frischem, normalem Harn, der mit Nitrit versetzt war, zeigten, dass auch hier das Ausbleiben der Jodkaliumstärkereaktion nicht die Abwesenheit von Nitrit beweist — sondern eine andere angewendet. Eine Mischung von α-Naphthylamin und Sulfanilsäure wurde in verdünnter Essigsäure gelöst und damit die zu untersuchende Flüssigkeit gemengt. Die Nitritreaktion, eine rote Färbung, trat mehrmals ein, wo die Jodprobe versagte.

Das Reagens wird wie folgt bereitet : 1) man löst 0,5 gr. Sulfanilsäure in 150 c.c. verdünnter Essigsäure; 2) man kocht 0,1 gr. festes α-Naphtylamin mit 20 c.c. Wasser, giesst die farblose Lösung von dem blauvioletten Rückstand ab, versetzt sie mit 150 c.c. verdünnter Essigsäure und giesst dann beide Lösungen zusammen. — Die gemischte Lösung hält sich gut, vorausgesetzt, dass salpetrige Säure ferngehalten wird. Sollte die Lösung sich doch rot färben, so schüttelt man sie mit Zinkstaub und filtriert.

Ausführung der Probe : Man versetzt die zu prüfende Flüssigkeit mit 2 c.c. des obigen Reagens, rührt um und lässt 5—10 Minuten stehen, wobei die geringsten Spuren salpetrigen Säure sich durch deutliche

Rotfärbung der Flüssigkeit zu erkennen geben. (TREADWELL, Lehrb. der analyt. Chemie, I, S. 259).

Quantitativ kam zur Anwendung die von F. GAILHAT angegebene Methode zur Bestimmung von Nitrit neben Nitrat (Journ. de Pharmacie et de Chimie, 1. Juli 1900. 6. Ser. XII, 9). Während jedoch GAILHAT den von SCHLÖSING zur Nitratbestimmung konstruierten Apparat benutzt, wurden die nachstehenden Versuche in der Weise ausgeführt, dass der zu untersuchende Harn oder Dünndarminhalt in einen mit concentrierter Chlorammoniumlösung beschickten und durch Durchleiten von Kohlendioxyd von Luft befreiten Erlenmeyerkolben mittels eines Hahntrichters eingeführt wurde. Beim Erhitzen zersetzt sich das durch Umsetzung von Natriumnitrit und Ammonchlorid gebildete Ammonnitrit zu Stickstoff und Wasser, und es gelingt in dieser Weise, sämtliches Nitrit zu zerlegen.

Der entwickelte Stickstoff wurde in einem mit Kalilauge gefüllten Azotometer aufgefangen; aus den entweichenden Gasen wurde mittels eines kleinen Rückflusskühlers mit glattem Kühlrohre, der mit dem Erlenmeyerkolben einerseits und dem Azotometer andrerseits gasdicht verbunden war, der Wasserdampf zurückgehalten. Nach dem Aufhören der Stickstoffentwickelung wurde der noch im Apparate verbleibende Rest dieses Gases durch Kohlendioxyd in das Azotometer getrieben. Das Volum des aufgefangenen Stickstoffs wurde abgelesen und mittels der LUNGE'schen Gasreduktionstabellen auf 0° und 760 millim. reduziert, und schliesslich hieraus das Natriumnitrit berechnet(1).

Einige Vorversuche hatten gezeigt, dass diese Methode für die Bestimmung von Nitriten in Flüssigkeiten, welche, wie Harn, organische Substanzen enthalten, durchaus brauchbar ist :

Nr		ABLESUNGEN			N reduz. c.c.	Daraus berechnet sich $NaNO_2$ in gr.	Angewandt $NaNO_2$ in gr.
		t °C	b mm.	N c.c.			
1	Versuch ohne Zusatz von Harn oder Nitrat	19	756	4,45	4,04	0,0125	0,0124
2	Zusatz von 100 c.c. frischem Harn	18	754	4,20	3,79	0,0117	0,0124
3	Zusatz von 100 c.c. Harn und ca. 1 gr. Natriumnitrat	17	748	4,06	4,63	0,0112	0,0124
4	Versuch wie bei 3	18	750	4,35	3,94	0,0121	0,0124

Der Gehalt der verwendeten Natriumnitritlösung war durch Titration

(1) Apparat und Arbeitsverfahren sind genau beschrieben in Zeitschr. f. angewandte Chemie. Berlin 1901. Heft 50.

mit 1/10 normaler Chamäleonlösung ermittelt worden. Wie eine Reihe von Versuchen ergeben haben, stimmen die beiden Nitritbestimmungsmethoden durchaus überein.

Der qualitative Nachweis von Nitrat wurde mittels einer Lösung von Diphenylamin in conc. Schwefelsäure ausgeführt. Bekanntlich giebt Nitrit mit diesem Reagens dieselbe blaue Farbenreaktion wie Nitrat. Da jedoch in den vorliegenden Fällen die Nitratmenge im Verhältnis zur Nitritmenge eine sehr grosse war, ebenso wie im Verhältnis zu der normalerweise im Harn vorkommenden Nitratmenge, so war die Anwesenheit von Nitrat (aus der durch das Maul eingeführten Substanz) leicht zu erkennen. Verschiedene Male wurde die Reaktion mittels einer Vergleichflüssigkeit, die aus frischem, normalem Harn durch Versetzen mit Natriumnitritlösung bis zum Gehalte der zu untersuchenden Flüssigkeit hergestellt war, kontrolliert, wo dann der stets sehr beträchtliche Unterschied der Färbungsintensitäten den hohen Gehalt des zu untersuchenden Harnes an Nitrat deutlich hervortreten liess.

Es wurde bei allen Versuchen ein solcher höherer Nitratgehalt im Harne gefünden. Ebenso enthielt der Dünndarm der Versuchstiere stets Nitrat.

Die Gährung des Harns, bei welcher, wie erwähnt, eine Reduktion der Nitrate zu Nitriten eintritt, wurde, wenn das wegen des längeren Dauer des Versuches nötig war, durch einen Zusatz von Chloroform verhütet.

Das verwendete Natriumnitrat wurde qualitativ geprüft und vollkommen frei von Nitrit befunden.

I.

Kaninchen von 1270 gr. Bekam durch den Magen 5 gr. Natriumnitrat in 50 c.c. Wasser gelöst.

1. Tag : Ist munter und frisst vorgelegtes Futter. Lässt 77 c.c. Harn, der 5,2 milligr. Nitrit enthält.

2. Tag : Die Nasenschleimhaut deutlich *grau* verfärbt (1). Blut aus einer Ohrvene mit dem eines normalen Tieres verglichen zeigt *braune* Verfärbung. 177 c.c. Harn mit 7,6 milligr. Nitrit. Tier traurig.

3. Tag : Wieder vollkommen munter. 115 c.c. Harn mit 5,4 milligr. Nitrit.

II.

Kaninchen von 2000 gr. Durch den Magen 6 gr. Nitrat in 20 c.c. wasser. Nach 6 Stunden 95 c.c. Harn mit 11,5 milligr. Nitrit. Am selbigen Tage ist die Fresslust des Tieres sehr gering, die Nasenschleimhaut grau verfärbt.

2. Tag : Frisst wieder. Hat keinen Harn mehr gelassen.

---

(1) Wir erinnern daran, dass das chokoladenbraune Methämoglobin den Schleimhauten und der Haut einen cyanotisch *grauen* Ton verleiht.

3. Tag : Vollkommen munter. Hat 85 c.c. Harn gelassen, der 7,8 milligr. Nitrit enthält.

III.

Kaninchen von 2030 gr. 6 gr. Nitrat in 15 c.c. Wasser in den Magen.

1. Tag : 48 c.c. Harn mit 11,8 milligr. Nitrit. Die Scheimhaut grau verfärbt, jedoch noch etwas Fresslust.

2. Tag : 50 c.c. Harn mit 11,8 milligr. Nitrit.

3. Tag : 20 c.c. Harn mit 21,7 milligr. Nitrit. Erholt sich.

IV.

Kaninchen von 1680 gr. 7 gr. Nitrat in 20 c.c. Wasser.

2 Stunden nach dem Eingeben hat das Tier allgemeine Krämpfe und verendet in ihnen 4 1/2 Stunden später. Das Blut des noch lebenden Tieres stark braun. Gelassener Harn (30 c.c.) enthält 12,6 milligr. Nitrit. Nach dem Verenden sind in der Blase noch 8 c.c. Harn mit 1,2 milligr. Nitrit.

V.

Kaninchen von 2200 gr., 9 gr. Nitrat in 20 c c. Wasser, wie immer in dieser Reihe mit Ausnahme von Versuch XVI in den Magen. Nach 3 Stunden 58 c.c. Harn mit 4,2 milligr. Nitrit.

Blut ist etwas gebräunt, die Schleimhäute ein wenig verfärbt. Wird sodann durch Halsschnitt getötet. Der Dünndarm wird oben und unten abgebunden, herausgenommen, aufgeschnitten und sein Inhalt mit etwas Wasser abgespült. Das Waschwasser auf Nitrit untersucht giebt 6,0 milligr. Die Nieren blutreich.

VI.

Kaninchen von 1000 gr. 4,5 gr. Nitrat mit 20 c.c. Wasser. Nach 3 Stunden 70 c.c. Harn, worin 2,3 milligr. Nitrit. Schleimhaut verfärbt, Blut *braun*. Getötet. Der Darm wie in V behandelt ergab 1 milligr. Nitrit.

VII.

Kaninchen von 1100 gr. Bekam 5 gr. Nitrat in 10 c.c. Wasser. Nach 1 1/2 Stunden getötet. Harn und Dünndarm enthalten reichlich Nitrat und — entsprechend der kurzen Dauer des Versuchs — nur Spuren Nitrit.

VIII.

Kaninchen von 1210 gr. 5,5 gr. Nitrat in 12 c.c. Wasser. Nach 5 Stunden getötet. Tier war ziemlich träge geworden, das Blut stark *braun*. Die Nieren stark gerötet. Harn hatte es gelassen 70 c.c. mit 12,9 milligr. Nitrit. Im Dünndarm 8,2 milligr. Nitrit.

IX.

Kaninchen von 1000 gr. 4,5 gr. Nitrat in 10 c.c. Wasser. Getötet nach 4 Stunden. Hatte vorher Krämpfe, Schleimhaut und Blut deutlich *verfärbt*. In 70 c.c. Harn 3,4 milligr. Nitrit, im Dünndarm 4,1 milligr.

X.

Kaninchen von 1460 gr. 6 gr. Nitrat in 15 c.c. Wasser. Getötet nach 6 Stunden. Blut und Schleimhaut stark *verfärbt*. In 85 c.c. Harn 5,3 milligr. Nitrit, im Dünndarm 13,2 milligr.

XI.

Kaninchen von 1750 gr. 5 gr. Nitrat in 20 c.c. Wasser. Im Harn 28,8 milligr. Nitrit. Das Tier verendet in der folgenden Nacht. Auf die Blutfarbe wurde aus Versehen nicht geachtet.

XII.

Kaninchen von 1520 gr. 6 gr. Nitrat in 10 c.c. Wasser. Getötet nach 8 1/2 Stunden. Das Tier hatte mittlerweile etwas Durchfall. Blut stark *braun*. In 100 c.c. Harn 6,8 milligr. Nitrit, im Dünndarm 7,4 milligr.

XIII.

Kaninchen von 1910 gr. 8 gr. Nitrat in 12 c.c. Wasser. Getötet nach 12 Stunden. Blut stark *braun*. In 126 c.c. Harn 9,5 milligr. Nitrit, im Dünndarm 22,0 milligr.

XIV.

Junger Hund von 4600 gr. Bekommt mit der Schlundsonde innerhalb 4 1/2 Stunden in 4 Portionen, von denen keine erbrochen wurde, 21 gr. Nitrat in 40 c.c. Wasser. Etwas Durchfall. Lässt in 12 Stunden 810 c.c. Harn mit 36,9 milligr. Nitrit.

XV.

Derselbe Hund, 5 Tage nach dem vorigen Versuche. 7 gr. Nitrat in 12 c.c. Wasser. Mehr wurde nicht beigebracht, da der Hund die folgende Gabe bald wieder erbrach. Am 1. Tage konnte nicht untersucht werden; am 2. waren Spuren von Nitrit im Harn, ebenso am 3. und 4, Tage. Der Harn enthält einschliesslich des 3. Tages reichlich Nitrat, am 4. nur mehr die gewohnte geringfügige Menge.

XVI.

Hund von 12700 gr. Bekommt in 6 Stunden Abstand in Chloroformnarkose je 10 gr. Nitrat in 33 c.c. Wasser in die rechte und in die linke Beinvene. Nach der 1. Einspritzung 610 c.c. Harn mit reichlich Nitrat und Spuren von Nitrit. Nach der 2. Einspritzung 560 c.c. Harn mit reichlich Nitrat und Spuren von Nitrit. Am folgenden Tage 175 c.c. Harn. Derselbe enthält noch viel Nitrat, Nitrit lässt sich dagegen nicht mehr darin nachweisen. Dieser letzte Harn war stark gefärbt und enthielt Eiweiss (keinen Zucker und keine Blutfarbstoffe). Das Tier war weniger munter als gewöhnlich.

XVII.

Junger Hund von 3850 gr. Erhält im Verlaufe von 9 Stunden 5 mal 4 = 20 gr. Nitrat in 40 c.c. Wasser in den Magen. Kein Erbrechen.

1. Tag : 144 c.c. Harn mit 14,2 milligr. Natriumnitrit.

2. Tag : 310 c.c. Harn mit 17,4 milligr. Nitrit. Die Bestimmung des Nitritgehaltes von weiteren 60 c.c. Harn konnte wegen Springens eines Kolbens nicht durchgeführt werden. Einige Tropfen Blut aus der Ohrvene mit dem eines normalen Hundes verglichen zeigt *braune* Färbung. Das Tier erhält noch 8 gr. Nitrat in 30 c.c. Wasser, worauf aber Erbrechen erfolgt.

3. Tag : Im Harn noch Spuren von Nitrit sowie etwas Eiweiss.

In allen Fallen waren beträchtliche Mengen von Nitrat im Harne verhanden.

Unsere Versuche ergaben also die volle Bestätigung der eingangs angeführten BARTH'schen Behauptung. Welchen Anteil neben dem giftigen Nitrit das unveränderte Nitrat an der Vergiftung hat, wird sich nur aus den Einzelverhältnissen jedes Falles entscheiden lassen. Ist z. B. eine grosse Menge Nitrat eingeführt worden und stirbt der Warmblüter dadurch rasch, ohne dass eine Spur der Methämoglobinfärbung des Blutes zu gewahren ist, so wird man an die Möglichkeit einer Vergiftung durch die Salzmasse allein denken können.

Dabei ist freilich nicht zu übersehen, das Natriumnitrit die Nervencentren vollständig lähmen kann, ohne dass am Blute die geringste Farben- oder Gestaltveränderung zu gewahren ist. Vgl. C. BINZ, *Ueber einige neue Wirkungen des Natriumnitrits* Arch. f. exp. Path. und Pharmakol., 1880, XIII, 133.

Nach Versuchen, welche E. ROST (Arbeiten aus den Kaiserl. Gesundheitsamte XVIII, 1, 1901) an Hunden angestellt hat, haben weder kleine noch grosse Mengen Natronsalpeter einen Einfluss auf die Fresslust, das Wohlbefinden, Kotentleerungen und Körpergewicht erkennen lassen, sondern entweder nur eine Stickstoffsparung im Stoffwechsel — bei lebhafter Diurese — oder eine Steigerung des Eiweisszerfalles — bei nicht genügender Wasserzufuhr —, was aber lediglich als Salzwirkung aufgefasst wird. Damit würden die obigen Versuche insofern übereinstimmen, als der zu den Versuchen XIV und XV benutzte Hund sich während derselben anscheinend wohl befand, obgleich in dem einen Falle (XIV) die Gabe 4,6 gr. Natriumnitrat aufs Kilo Körpergewicht betrug gegen eine Maximalgabe von 1,4 gr. aufs 1 kgr. bei ROST. Die Versuche dieses Forschers ändern also nichts an unserem und dem früheren Ergebnisse.

Wenn man in vergangenen Jahrzehnten bei der arzneilichen Anwendung des Natriumnitrats nichts besonderes von seiner Giftigkeit hörte, so lag das wohl an den kleinen gebräuchlichen Gaben : 5,0—10,0 gr. auf 180,0 Wasser, esslöffelweise alle paar Stunden.

An welchen Orten des Tierkörpers die Reduktion zu Nitrit geschieht, geht aus den bisherigen Untersuchungen nicht hervor und bedarf weiterer Forschung. Ist die Reduktion geschehen, so dürfte die weitere Zerlegung überall stattfinden, wo viele Kohlensäure entwickelt wird, denn die Nitrite werden schon durch Kohlensäure und Wasser in der bekannten Weise gespalten (1).

Man darf nicht einwenden, in unseren Versuchen handle es sich um

(1) C. BINZ, a. a. O. S. 138.

höchstens Centigramme Nitrit, die im frischen Harn oder in Darmschleim gefunden wurden. Diese Centigramme sind nur ein geringer Teil des überall vorhandenen, so leicht diffundirenden Nitrits, dessen *allgemeine* Anwesenheit sich ausserdem aus der Bildung des Methämoglobins ergab.

Abgesehen von dem rein toxikologischen Interesse bieten die Resultate von Barth und Binz von 1879 und ihre jetzige Bestätigung den Nachweis eines im *lebenden Warmblüter möglichen Reduktionsvorganges.* Bis dahin beachtete man in ihm nur reine Oxydationen und Synthesen.

A. Heffter sagt hierüber folgendes (Arch. f. exper. Path. und Pharmakol., 1901, XLIV, 240) :

« Dass im Organismus Reduktionsprocesse verlaufen, ist durch die Beobachtungen Ehrlichs 1885, dass gewisse blaue Farbstoffe in den Geweben des lebenden Tieres entfärbt werden, zuerst wahrscheinlich gemacht worden. Hofmeister hat weiter 1894 gefunden, dass die tellurige und Tellursäure in gewissen tierischen Organen zu Tellur reduciert werden, und zwar war diese reducierende Wirkung am stärksten in den Nieren und der Leber vorhanden. Auch die älteren Beobachtungen von Binz und Schulz 1879 über die Bildung von arseniger Säure aus Arsensäure durch tierische Gewebe sind hier zu erwähnen ».

Die letztaufgeführten Versuche über die Reduktion der Arsensäure wurden quantitativ erneuert und erweitert(1). Die Versuche Barth's gehören zu den ersten ihrer Art. Es sind ihnen aber hinzuzufügen die von M. Melsens 1865(2) über die Reduktion der Jodate im Organismus, und die von v. Mering 1885(3) über die Reduktion des Natriumchlorats, nachdem Binz 1873(4) die Reduktion des Kaliumchlorats durch faulende Eiweisskörper gezeigt hatte. Wahrscheinlich sind das die bekannten nicht alle, so dass die Aufzählung Heffter's weiter zu ergänzen wäre.

Erwägt man, wie schwer es oft ausserhalb des Körpers ist, solche Reduktionen, zum Beispiel die des Kaliumchlorats, zu vollführen, so erkennen wir auch hier wieder die bedeutende chemische Kraft, die in lebenden Organismen wirkt(5).

Bonn, November 1901.

---

(1) Binz u. Laar : Arch. f. exper. Path. u. Pharmak., 1896, XXXVIII, 259.

(2) Daselbst referiert 1878, VIII, 320 u. XIII, 113.

(3) *Das chlorsaure Kali.* Berlin, 1885.

(4) Berlin. klin. Wochenschr., 1874, S. 119.

(5) *Ueber reducierende und oxydierende Bakterien.* Vgl. W. Heraeus, Arch. f. Hygiene, 1. Band. 1886.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Berlin.
Director Professor O. Liebreich.

Ueber Blutimmunität

von

Dr E. F. BASHFORD,
Grocers' Research Scholar, Universität Edinburgh.

(Erwiderung an Professor J. Pohl, Direktor des Pharmakologischen Instituts der deutschen Universität in Prag.)

In Anbetracht der vielen uncontrollierbaren Factoren, welche bei der Erforschung der Immunität gegen bacterielle Toxine (und bei der Hervorrufung von Antikörpern) wichtige Momente bilden, ist es angemessen, dass viel Studium der Erzeugung von Immunitätsphänomenen durch andere, leichter zu controllierende Agentien gewidmet werden sollte.

Die Feststellung des Bestehens einer wahren Analogie zu den, durch bacterielle Toxine hervorgerufenen Phänomenen, Ricin und Abrin (Ehrlich)(1), bei Schlangengift (Fraser)(2), ist von fundamentaler Bedeutung.

Wenn auch die Anstrengungen dahin gerichtet wurden, dieselben Thatsachen bei Körpern zu konstatieren, deren längst bekannte Wirkung eine Angewöhnung auf den ersten Blick immunitätsähnliche Erscheinungen erduldet, hat genaue Erforschung stets negative Resultate ergeben.

Irgendwelche Behauptung der Existenz einer Analogie zu den Immunitätsvorgängen bei Körpern von bekannten Konstitutionen,

(1) Deutsch. med. Wochenschr., 1890 und '91.

(2) Brit. Med. Jl. 1895. Nature 1896.

berechtigt zu der Annahme einer völlständigen Umwandlung unserer gegenwärtigen Conceptionen dieser Prozesse; sollte diese Analogie keine berechtigte sein, so ist diese Behauptung nur dazu da, eine grosse Verwirrung in einem schon sehr komplizierten Thema anzurichten.

Während einer Untersuchung der Wirkungen verschiedener Blutgifte, gab mir mein verehrter Lehrer Paul Ehrlich die Anregung, nachzuprüfen, ob die Behauptung Pohl's(1) einer solchen Analogie bei dem Glucosidsolanin, berechtigt sei oder nicht. Mein Aufsatz über dieses Thema hat eine Entgegnung Prof. Pohl's hervorgerufen, welche eine solche meinerseits wiederum erfordert.

In seiner Mitteilung(2) « Ueber Blutimmunität » schrieb Prof. Pohl : « Die Thatsache, dass gegen die meisten Infektionskrankheiten spezifische Sera oder Antikörper existieren, spricht ebenso für die Umwandlung der spezifischen Toxine in jene, als auch für eine in zahlreichen Varianten mögliche chemische Reactionsfähigkeit des thierischen Körpers. Die Frage nach der Art dieser Vorgänge im Einzelfall ist nun bei der ungenügenden chemischen Charakteristik der bacteriellen Toxine derzeit mit ihnen nicht durchführbar. Gelänge es aber durch ein scharf charakterisiertes chemisches Individuum Erscheinungen wie durch Toxine hervorzurufen und aus demselben einen Antikörper entstehen zu sehen, so wäre damit eine Voraussetzung oder gar ein Schritt zur Lösung jener Frage gethan. Was in der Litteratur über Immunisierung gegen organische Basen vorliegt, ist wenig aufmunternd... Es wurde nunmehr versucht durch protrahierte Darreichung kleiner Solaninmengen an Kaninchen, die Schutzkraft ihres Serums zu ändern. Gleich der erste Versuch gab ein positives Resultat und führte zu einer Vorstellung über die Natur des Schutzkörpers..... Das Solaninthierserum hatte somit eine Steigerung der Schutzwirkung um mindestens das Zehnfache erfahren. »

Es war also Prof. Pohl gelungen durch ein scharf charakterisiertes chemisches Individuum Erscheinungen wie durch Toxine hervorzurufen; er sagt aber nicht, ob durch eine Umwandlung desselben das spezifische Antitoxin entstanden ist. Pohl fand weiter, dass « Immunkörper in den Harn übergegangen war », und schloss daraus — aus welchem Grunde ist schwer zu verstehen — dass die Schutzwirkung des Serum und des Harn von einem und demselben Schutzkörper abhängig waren, und das dieser Schutzkörper nichts anderes als saures Phosphat sei. Da jedoch die

(1) Arch. intern. d. pharm. et de thér. Bd. VII. p. 1.

(2) Loc. cit.

Wirkung nicht spezifisch saurem Phosphat zuzuschreiben war, so suchte er die Erklärung in einer « neuen » hypothetischen « Kraft » oder « Prinzip », einem sogenannten « sauren Produkt ». In seiner Entgegnung(1) ändert Prof. POHL seinen Standpunkt folgendermassen :

« Die vorstehenden Versuche beweisen, dass das Kaninchenserum nach Solanininjektion thatsächlich eine Erhöhung seiner Resistenz erfährt; allerdings ist die Steigerung der Schutzkraft nicht so gross, wie in dem veröffentlichten Versuch meiner ersten Mitteilung ». (Dieses Mal ist die Schutzkraft nur 3—4 fach erhöht, gegen die « frühere » *mindestens 10 fache* Erhöhung.)

« Es kann ja möglich sein, dass bei Wiederholung der Versuche in einem oder dem anderen Falle diese Resistenz-Verschiebung vermisst werden wird, doch kann dies darauf beruhen, dass der Aderlass in einem Moment gemacht worden ist, wo das gifthemmende Prinzip — in unserem Falle ein leicht diffusibler saurer Blutbestandteil — wieder ausgeschieden worden ist : auf keinen Fall kann bei diesem Phänomen, das in vier auf einander folgenden Versuchen beobachtet wurde von « Zufälligkeiten » gesprochen werden. Wenn nun BASHFORD meint, dass der positive Ausfall solcher Immunitätsversuche mit wohl definirten und krystallisierenden Verbindungen im Stande sei, die moderne Immunitätslehre ad absurdum zu führen, wohlan, so wäre sie hiermit ad absurdum geführt! Ich selbst aber halte es für unzulässig, dass, zwar in minimalem Umfange, doch *unbedingt* und *sicher* bestehende Phänomene der Resistenzerhöhung des Blutserums mit anderen « (!) » künstlicher Immunisierung zu identificieren, mir genügt es, das Prinzip festgestellt zu haben, dass schon durch quantitative Veränderung eines normalen Blutbestandteils Immunisierungs phänomene bedingt sein konnten. » — Es handelt sich hier um eine Verdrehung der Thatsachen. So bescheiden war Prof. POHL in seinem ersten Aufsatz nicht, wie das leicht aus dem hier auf Seite 410 Wiedergegebenen zu ersehen ist. In Versuchen, die ich vor mehr als 18 Monaten in EHRLICH's Institute machte, war es mir leicht, festzustellen, dass die Schutzwirkung des Harn und die des Serum gegen die hämolytische Wirkung des Solanin zwei ganz verschiedene und vollständig unabhängige Phänomene waren.

Bei Urin sind die Phänomene nur der Acidität der vorhandenen Salze zuzuschreiben, beim Serum spielen die letzteren gar keine Rolle; die organischen Bestandteile des Serums sind allein verantwortlich. Es ist

(1) Arch. intern. de pharmacodynamie et de thérapie, VIII, p. 437.

kaum zu verstehen, wie POHL sich in eine solche Verwirrung hineindenken konnte.

Wenn jedoch hier kein Fall wirklicher Immunität in Betracht kommt, dann sind sowohl seine Versuche, wie seine Schlussfolgerungen als Beiträge zur Immunitätslehre absolut wertlos. POHL hat es nicht für nötig gefunden, festzustellen, ob das eine Kaninchen seiner ersten Mitteilung oder die vier seiner zweiten immun gegen Solanin waren, ob sie wenigstens Angewöhnung erworben hatten, oder ob sie in der That die Wirkung der einfach tötlichen Dosis aushalten konnten. Den allerersten essentiellen Ausgangspunkt derartiger Versuche, die Bestimmung der einfach tötlichen Dosis hat POHL nicht eingehalten. Er behauptet nichts destoweniger, Tiere gegen Solanin immunisiert zu haben. In wieweit seine Behauptung gerechtfertigt ist, werden wir erfahren. Ein Kaninchen POHL's von 1970 gr. erhielt während 10 Tagen in 5 Dosen ein Total von 0,06 gr. Solaninacetat. In diesen 10 Tagen fiel das Gewicht dieses Solaninimmunkaninchens auf 1750 gr. und sein Serum hatte nichts destoweniger eine « Steigerung der Schutzkraft um mindestens das Zehnfache erfahren », alles als Folge der Einführung einer Menge Solanin gleich einem Sechstel der einfach tötlichen Dosis, denn ich habe etwas weniger als 0,2 Solaninchlorhydrat als die tötliche Dosis pro Kilogramm festgestellt. Ich behandelte Kaninchen genau nach POHL's ersten Angaben. Die schützende Wirkung des Serum und die Empfindlichkeit der roten Blutkörperchen wurde untersucht. Die mit physiologischem Kochsalz gewaschenen Blutkörperchen des mit Solanin immunisierten (!) Thieres waren empfindlicher gegen Solanin als die eines normalen Thieres. Von einer Steigerung der Schutzkraft des mit Solanin behandelten Kaninchens konnte keine Rede sein (cfr. Protok. S. 413 u. 414). Noch drei Kaninchen erhielten vom 29. April bis zum 28. Mai 130 milligr. Solaninchlorhydrat. Ein Kaninchen starb nach Injektion von 0,02 gr. einem Zehntel der tötlichen Dosis pro Kilo, am 20. Mai. Die mit Kochsalz gewaschenen Blutkörperchen der am Leben gebliebenen Kaninchen waren empfindlicher gegen Solanin als das Blut normaler Thiere, wahrscheinlich weil wegen Anaemie der behandelten Thiere in einer bestimmten Menge Blut weniger Blutkörperchen vorhanden waren, und Solanin daher in erhöhter Concentration wirkte. Eine erhöhte Schutzwirkung des Serum war nicht zu konstatieren.

Empfindlichkeit der roten Blutkörperchen eines normalen Kaninchens und zweier mit Saponin behandelten Kaninchen. Hämolytische Wirkung auf 5 c.c. einer 2,5 % Blutaufschwemmung in 0,85 % Kochsalz.

Saponinlösung in 0,85 % Kochsalz in c.c.		Normales Kaninchenblut	« Weissgelb » Saponinkaninchenblut	« Grau » Saponinkaninchenblut
$\frac{1}{4500}$	1,0	complet	complet	complet
	0,75	fast complet	complet	complet
	0,5	mässig	mässig	mässig
	0,35	wenig	wenig	wenig
	0,25	Spur	Spur	Spur
	0,15	o	o	o
$\frac{1}{13500}$	1,0			
	0,75			
	0,5			
	0,35	o	o	o
	0,25			
	0,15			
	0,1			

Hämolytische Wirkung des Solaninchlorhydrats auf 1 c.c. 5 % Serumfrei Blutaufschwemmung in 0,85 % Kochsalz + überall 0,4 c.c. 0,85 % Kochsalz				Schutzwirkung von 0,4 c.c. Serum anstatt 0,4 c.c. Kochsalz	
Verdünnung von Solan.-HCl in 0,85 % Kochsalz in c.c.		Blut des normalen Kaninchens	Blut des Solaninkaninchens	Serum des normalen Kaninchens	Serum des Solaninkaninchens
$\frac{1}{2000}$	1,0	complet	complet	complet	complet
	0,75	»	»	»	»
	0,5	»	»	stark	stark
	0,35	»	»	mässig	mässig
	0,25	stark bis fast complet	fast complet	wenig	wenig
	0,15	mässig	mässig	Spur	Spur
$\frac{1}{20000}$	1,0	wenig	wenig	minimal Spur	minimal Spur
	0,75	Spur	Spur	o	o
	0,5	minimal Spur	minimal Spur	o	o
	0,35	o	o	o	o
	0,25	o	o	o	o
	0,15	o	o	o	o

Keine Veränderung der Empfindlichkeit der Blutkörperchen des Solaninkaninchens, keine Steigerung der Schutzkraft des Serum des Solaninkaninchens.

(1) Hämolytische Wirkung des Saponin auf 1 c.c. 5 % normaler Kaninchenblutaufschwemmung in 0.85 % Kochsalz. (2) Schutzwirkung des normalen Kaninchenserums. (3) Schutzwirkung des Serum des mit Saponin behandelten Kaninchens.

Saponinlösung in 0,85 % Kochsalz	in c.c.	(1) Hämolytische Wirkung ohne Serum	(2) Hämolytische Wirkung + 0,2 norm. Kan.-serum	(3) Hämolytische Wirkung + 0,2 Sap. Kan.-serum
1/4500	3,0			
	2,8			
	2,6			
	2,4		complet	
	2,2			
	2,0			complet
	1,8		ziemlich mässig	
	1,6		» »	
	1,4		minimal Spur	
	1,2	complet	o	
	1,0		o	
	0,9		o	ziemlich
	0,8		o	minimal Spur
	0,7		o	o
	0,6		o	o
	0,5		o	o
	0,4		o	o
	0,3		o	o
	0,2		o	o
	0,1	mässig	o	o
	0,05	wenig	o	o
1/13500	1,0	mässig	o	o
	0,9	wenig	o	o
	0,8	minimal Spur	o	o
	0,7	o	o	o
	0,6	o	o	o
	0,5	o	o	o
	0,4	o	o	o
	0,3	o	o	o
	0,2	o	o	o
	0,1	o	o	o

Hédon(1) hat unabhängiger Weise die Aufmerksamkeit auf dieselben Thatsachen gelenkt. — Der Grundstein zu Pohl' ganzer Arbeit ist die Behauptung, dass es ihm gelungen sei, durch protrahierte Darreichung kleiner Solaninmengen an Kaninchen eine wirkliche Immunität gegen Solanin zu erzeugen.

(1) C. R. Biologie 1900 auch 1901. Dieses Archiv, VIII, 381.

Nach Prof. POHL's neuester Mitteilung ist es ihm gelungen, Kaninchen leicht und rasch in folgender Weise zu immunisieren :

Nummer der Dosen		Total Menge	Original Gewicht	Gewicht nach Schluss der Immunisation	
1)	12	0,12	1500	Nach 25 Tagen	1540
2) Nicht angegeben		0,035	1400	» 7 »	1100
3)	4	0,025	1050	» 6 »	1620
4)	6	0,07	2420	» 14 »	nicht angegeben.

Bei diesen immunen (!) Kaninchen (wovon eines ungefähr die zwei-fache Menge Solanin des Kaninchens der ersten Mitteilung erhielt) schritt jedoch die Erhöhung der Schutzkraft des Serum nicht zehnfach, sondern drei bis vierfach vor. — Sind nun diese Kaninchen wirklich gegen Solanin immun gewesen? Keineswegs, wie aus dem Gewichtsverluste an erster Stelle anzunehmen ist. Ich habe diese vorstehenden Versuche wiederholt, nachdem ich die einfach tötliche Dosis meines Solaninchlorhydrats, die, wie schon gesagt, etwas weniger als 0,2 gr. pro Kilo beträgt, festgestellt hatte.

Ein Kaninchen von 1620 gr. das wie N° 1 in den vorhergehenden Versuchen 0,2 in 12 Dosen erhielt, und welches einen Gewichtsverlust bis zu 1580 gr. nach 25 Tage zeigte, war am Morgen des 3 Tages nach Einführung von 0,35 gr. Solaninchlorhydrat tot, steif und kalt.

Im Herzbeutel und beiden Pleurahöhlen war etwas durch Hämoglobin rot gefärbtes Transudat; lokale Entzündung des Unterhautzellgewebes der Impfstelle war vorhanden. Der Harn enthielt Eiweiss, aber kein beweisbares Hämoglobin. Ein Kontrolltier von 1050 gr. erhielt zur selben Zeit von derselben Lösung 0,2 und starb nach 56 Stunden.

Prof. POHL's ganzer Aufbau hat darum überhaupt keine Grundlage, und es wäre Grund vorhanden, ihm nicht weiter zu antworten. POHL bezeichnet meine Versuche aber als « methodisch verfehlt » und schreibt weiter : « BASHFORD, der sich bemüht, meine Angaben zu widerlegen, war vor allem verpflichtet, meine Versuchsanordnung einzuhalten. » Meine Methode unterschied sich nur von der POHL's durch ihre grössere Genauigkeit, wodurch es möglich war, eine Reihe von Versuchen anzustellen mit Zwischenräumen von einem Bruchteil einer hämolytischen Dosis und nicht, wie in dem Fälle POHL's, mit einem Zwischenraum einer ganzen oder gar mehrfachen hämolytischen Dosis. Weiter arbeitete ich mit serumfreien Blutkörperchen, was bei zur Bestimmung der Schutzwirkung von Serum angestellten Versuchen eine selbsverständliche Voraussetzung sein muss. Vergleicht man die Resultate, die POHL bei dem grundlegenden hämolytischen Versuch der Bestimmung der einfach lösenden Dosis

erhalten hat, mit meinen Zahlen, so unterschieden sich dieselben nur dadurch, dass meine Methode die Bestimmung einer kleineren, genaueren und bei Wiederholungen constanteren Dosis ermöglichte, als dies POHL erreicht hat, da ich mit grösster Verdünnung von Solanin arbeitete und im Ganzen mit grösseren Mengen Solanin- und Blutflüssigkeiten.

In POHL's erster Mitteilung(1) sind die grundlegenden Controllversuche mit Kaninchenblut folgende : (Seite 3, Versuch I) « 1 c.c. NaCl-Lösung + 0,05 von 0,1 % Solaninlösung + Kaninchenblut wird in 20 Sekunden lackfarben. » (Seite 4) « Controlversuch am normalen Kaninchen : 1 c.c. NaCl-Lösung (0,6 %) + 0,1 c.c. von 0,1 % Solaninlösung + Kaninchenblut in 20 Sekunden lackfarben ».

Ich nehme an, dass POHL seine Versuchsanordnung eingehalten hat, und dass, wie bei den anderen Versuchen seiner ersten Mitteilung die Menge Blut bei diesen Versuchen auch ein Tropfen, d. h. 0,05 c.c. war. Somit ist in dem zweiten erwähnten Versuch die einfach lösende Dosis die Doppelte der ersten.

In seiner zweiten Mitteilung(2) ist der grundlegende Versuch mit Kaninchenblut nach derselben Methode, folgender : « In 1 c.c. physiologischer Kochzalzlösung genügen 0,05 c.c. einer 0,1 % Solaninacetat- oder hydrochloratlösung zur Lösung von 0,1 c.c. frischen, defribinierten Blutes. »

Sogar hier ist der Ausgangspunkt, d. h. die einfach lösende Dosis, die Hälfte der einen, und ein Viertel der anderen Bestimmung seiner ersten Mitteilung. POHL's Bestimmung der Schutzkraft des Kaninchenserums ist folgende :

(Seite 3).

1 c.c. Kaninchenblutserum	+ 0,05	0,1 % Solaninl. + Blut bleibt 2 Stunden unverändert.
	+ 0,1	
	+ 0,2	0,1 % Solaninl. + Blut wird erst in einer Stunde partiell lackig.

(Seite 4).

1 c.c. Normalserum	+ 0,1	von 0,1 % Solaninl. + Kaninchenblut noch nach einer Stunde unverändert.
	+ 0,2	
	+ 0,3	in 5 Minuten vollständig lackfarben.

Und « es bedarf bei Lösung des Giftes in Kaninchenserum meist mehr als das doppelte dieser Menge, also meist etwas mehr als 0,1 c.c. In 8 Normalversuchen war 0,1 in einem 0,15 c.c. die eben noch ohne

(1) Loc. cit.
(2) Loc. cit. S. 438.

Schädigung des Blutes erträgliche Grenzdosis. » Auch seine Bestimmung der Schutzkraft normalen Serums hat unregelmässige Resultate ergeben. In seiner ersten Mitteilung ist es POHL gelungen, die Schutzkraft des Serum um mindestens das Zehnfache zu erhöhen. In seiner zweiten Mitteilung hat er die Steigerung der Schutzwirkung nur auf das 3—4 fache erhöht gefunden.

Bei nicht übereinstimmenden Resultaten soll der Forscher immer bedenken, dass seine persönlichen Faktoren Schuld daran sein können; darum habe ich die Versuche nach meiner früheren und nach POHL's Methode wiederholt. Ich habe für regelmässige Temperatur u. s. w. gesorgt und in allen Fällen haben diese Methoden dieselben übereinstimmenden Resultate ergeben; wenn POHL behauptet, eine 10 oder 3—4 fache erhöhte Schutzkraft des mit Solanin behandelten Kaninchenserums erhalten zu haben, haben in meinen Händen seine sowohl wie meine Methode verfehlt, dies zu konstatieren.

Bestimmung (nach POHL's Methode) der einfach hämolytischen Dosis.

Wirkung auf 0,1 Blut von verschiedenen normalen Kaninchen (1, 2, 3, 4, 5) und auf Blut von mit Solanin behandelten Kaninchen (6 u. 7).

0,1 °/o Solanin-HCl in 0,85 °/o Kochsalz	1	2	3	4	5	6	7
0,05	mässig	mässig	mässig	mässig	mässig	mässig	mässig
0,1							
0,15							
0,2	fast complet	fast complet	fast complet	fast complet	fast complet	fast complet	fast complet
0,25	complet	complet	complet	complet	complet	complet	complet
0,35	»	»	»	»	»	»	»
0,4	»	»	»	»	»	»	»
0,45	»	»	»	»	»	»	»

Bestimmung (nach POHL's Methode) der Schutzkraft des Serum normaler (No 1, 2, 3, 4, 5 und 6) und mit Solanin behandelter Kaninchen (No 7, 8 und 9).

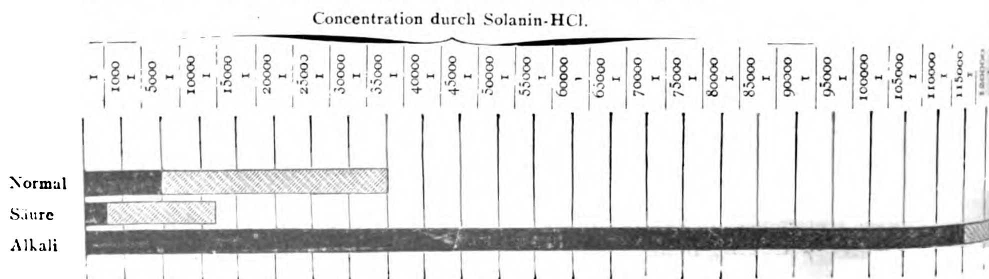
0,1 °/o Solanin-HCl in 0,85 °/o Kochsalz	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,05	o	o	o	o	o	o	o	o	o
0,1	o	o	o	o	o	o	o	o	o
0,15	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig
0,2									
0,25	Λ	Λ	Λ	Λ	Λ	Λ	Λ	Λ	Λ
0,3									
0,35									
0,4									
0,45									

Kein Unterschied in der Schutzkraft und ebenfalls kein Unterschied in der Empfindlichkeit der roten Blutkörperchen vorhanden.

Wirkung der Zusatz von Säure und Alkali.

Concentr. d. Solan.-HCl.	CONTROLLE + 1 c.c. 0,85 % Kochsalz + 1 c.c. 5 % Kan. Schlamm	SÄURE + 1 c.c. $\frac{1}{1000}$ N. HCl in 0,85 % Kochsalz + 1 c.c. 5 % Kaninchenblut Schlamm	ALKALI + 1 c.c. N. Na OH in 0,85 % Kochsalz + 1 c.c. 5 % Kaninchenblut Schlamm
1 : 1000	complet	complet	complet
1 : 2000	»	mässig	
1 : 3000	»	wenig	
1 : 4000	fast complet	Spur	
1 : 5000	»	o	
1 : 6000		o	
1 : 7000		o	
1 : 8000			
1 : 9000			
1 : 10000			
1 : 11000	wenig		
1 : 12000	Spur		complet
1 : 13000	»		
1 : 14000	o		
1 : 15000			
1 : 16000			
1 : 17000		o	
1 : 18000			
1 : 19000			
1 : 20000			
1 : 25000			
1 : 30000	o		
1 : 40000			complet
1 : 50000			mässig
1 : 60000			wenig
1 : 70000			wenig
1 : 80000			o
1 : 90000			o
1 : 100000			
Controlle ohne Solanin	o	o	o

Durch den Zusatz von 2 c.c. Flüssigkeit wird die Concentration der Säure und Alkali auf $\frac{1}{3000}$ N erniedrigt; die Resultate können in folgendes Schema gebracht werden :



In seiner ersten Mitteilung war POHL vollständig entgangen, dass schwache Alkalien die hämolytische Wirkung verstärken, während Säure sie schwächt. In seiner zweiten Mitteilung schreibt POHL : « natürlich hatte ich freie Säuren und freies Alkali in ihrer Wirkung auf unseren Giftversuch herangezogen, doch habe ich die Publikation dieser Versuche die ich nicht für einwandsfrei hielt, unterlassen ». Es ist merkwürdig, dass, wenn diese Wirkungen der freien Säuren und Alkalien POHL bekannt geworden waren, diese Thatsachen seine Anschauungen so wenig beeinflusst haben. Nach Wiederholung meiner Versuche findet POHL, « dass die toxische Kraft des Solaninchlorhydrats von derartigen Säuremengen unberührt bleibt. » « Nicht minder bedenklich sind BASHFORD's Versuche mit Alkalizusatz zu Solaninlösungen. Auch hier ruft NaOH in einer Concentration 1/500 N schon für sich, ohne Solanin, complete Lackfarbe des Blutes hervor; wenn bei dieser « (!) » oder sogar stärkeren « (!) » Concentrationen von Alkali schon geringe Solaninmengen lösend wirken, so handelt es sich hier einfach um Summation von Giftwirkungen. »

Meine Arbeit über die schwächende Wirkung von Säuren und die verstärkende Wirkung von Alkali ist von HÉDON(1) in vollständigster, unabhängigster Weise bestätigt worden; er trennt sich nur von mir in der verschiedenen Erklärung der Vorgänge. Die oben angeführten Sätze POHL's sind eine Verdrehung meiner Thatsachen. In meiner Mitteilung setzte ich voraus, « ich habe zunächst diejenige Dosis von Ammoniak, Natriumhydrat, Carbonat, alkalisches Phosphat u. s. w., welche an und für sich auf die roten Blutkörperchen keine schädigende Wirkung ausübt, festgestellt. »

In meinen Versuchen war die Concentration des Alkali 1/3000 N und nicht 1/500 N oder « stärker », wie POHL angiebt. Wenn POHL schliesst « NaOH-NaCl-Lösungen in einer Concentration 1/1000 zeigen, im Gegensatze zu BASHFORD's Angaben p. 105, gegenüber der wirksamen Grenzdosis Solaninhydrochlor. höchstens eine Spur fördernden Einflusses, *niemals* bewirken sie aber wie BASHFORD behauptet, complete Lösungen »; so sei hier nur bemerkt, dass POHL's Versuchsanordnung oder seine Beobachtung derartig ist, dass noch einmal ihm die von HÉDON und mir festgestellten Thatsachen entgangen sind, Thatsachen, die um so wichtiger sind, da Solanin ein Glucosid ist, das ausnahmsweise Salze bildet(s. Protok. S. 418).

Es ist unnötig, in weitere Diskussionen über Theorie sich einzulassen, denn, « es ist kein neues Prinzip des Immunisierungsvorganges aus den

(1) Loc. cit. und auch Comp. rend. Acad., CXXXIII, No 5, 1901.

Versuchen zu erschliessen », und Pohl hat recht, wenn er schreibt, dass « eine phantastische Nomenclatur mit undeutlicher Begriffsbestimmung keine Vorbedingung für weiteren Fortschritt der Immunisierungslehre darstellt ».

Pohl's Versuche haben absolut nichts mit Immunität zu thun; seine Tiere waren noch nicht einmal an die einfach tötliche Dosis angewöhnt. Die schützende Wirkung des Serum gegen die Glucoside bildet keine Analogie zu einer antitoxischen Wirkung, noch hat sie irgend etwas mit einem « Säureprodukt » zu thun, sondern sie steht in intimer Beziehung zu den organischen und albuminösen Bestandteilen des Serum. Diese Schutzwirkung des Serum kann nicht, wie Pohl versichert, künstlich gesteigert werden. Er hat zwei unabhängige Phänomene, die Schutzwirkung des Serum und die des Harn, vermischt.

Was die normale Schutzwirkung(1) des Serum gegen die hämolytische Wirkung des Solanin u. s. w. betrifft, ist dies blos ein Beispiel in vitro für die Verteilung des Glucosid in corpore. Nachdenken über die hämolytische Wirkung einer Serumart auf die Erythrocyten einer fremden Species, oder ein durch Immunisierungsvorgänge künstlich hämolytisch wirkenden Serum, wie dies von Ehrlich und Morgenrot, Bordet und Buchner beschrieben ist, hat mich angeregt, die Erklärung in dem Vorhandensein von Affinitäten zwischen reagierendem Serum und Erythrocyten zu finden, wodurch eine mutuelle Reaction zwischen den beiden hervorgerufen wird, wie dies Ehrlich und Morgenroth schon längst angenommen haben. Weitere Betrachtung der Sache hat mich zu der Ueberzeugung gebracht, dass es erlaubt sein möge, anzunehmen, dass das Blutserum irgend einer Tierart das beste Conservierungsmittel der Erythrocyten dieser Species sei; weiter, dass das Serum und die roten Blutkörperchen so zu sagen neutral gegen einander sind; der Grund dieser Indifferenz findet sich in dem Besitz der gleichen chemischen Affinitäten gegen ein drittes — im Sinne Ehrlich's wird dies auf abgestossene Receptoren zurückzuführen — oder solcher, welche durch beiderseitige Reaction nicht gesättigt werden können. Es braucht daher nicht Wunder zu nehmen, dass bei Körpern, welche eine Wirkung auf rote Blutkörperchen ausüben, ein Unterschied stattfindet, wenn diese auf Erythrocyten allein, d. h. auf von Serum frei gewaschene Blutkörperchen wirken, oder auf rote

(1) Die folgenden Betrachtungen sind citiert aus einer Mitteilung, die der « Milner Fothergill Gold Medal in Therapeutics » erhielt, und am 26. April 1901 an der Universität Edinburgh eingegangen war.

Blutkörperchen in Anwesenheit von Serum. Ob diese durch Anwesenheit von Serum hervorgerufene Abschwächung der Wirkung solcher Agentien in allen Fällen auf einen im Serum natürlich vorhandenen, specifischen Antikörper zurückzuführen ist, scheint mir daher fraglich.

Ich bin gezwungen den Schluss zu ziehen, dass diese Modification der Wirkung in vitro in vielen Fällen nichts weiteres darstellt, als eine Verteilung der in Betracht kommenden Körper zwischen den roten Blutkörperchen und dem Serum, verursacht durch ein oder mehrere gemeinschaftliche oder ähnliche Bestandteile des Serum und der roten Blutkörperchen. Die Schutzwirkung eines specifischen Antikörpers wird gewiss nur ein spezieller Fall der Verteilung des spezifischen Giftes in corpore sein. Bei Saponin hat RANSOM(1) Resultate erhalten, durch welche er sich berechtigt fühlt, anzunehmen, das dass Vorhandensein von Cholesterin die hämolytische Wirkung auf rote Blutkörperchen und die schützende Wirkung des Serum bedingt. Wenn er aber behaupet, dass Cholesterin ein « Gegengift » zu Saponin bildet, so muss ich bemerken, dass dies nur der Fall sein konnte, wenn durch die frühere Einführung von Saponindosen die Erzeugung von frischem Cholesterin hervorgerufen worden war, als Schutzmittel gegen später eingeführtes Saponin. Es liegt auf der Hand, dass, wenn in vitro das Cholesterin, welches in Serum und Erythrocyten vorhanden ist, einen Teil des Saponin erfordert, so muss in corpore das Cholesterin, das in Leber, Gehirn, Muskeln u. s. w. vorhanden ist, auch einen Teil erfordern. In der Abwesenheit von Serum in vitro, tritt eine Maximumproportion des Agens in intime Beziehung mit den roten Blutkörperchen. Sollte Serum aber vorhanden sein, so ist die Verteilung verändert, das Agens, z. B. Solanin, ist zwischen Serum und Erythrocyten verteilt, seine Affinität für Serum steht im Zusammenhang mit seiner Affinität für die roten Blutkörperchen selbst, sodass mit dem Grad der Giftigkeit, auch die Stärke der schützenden Wirkung des Serum steigt und fällt. Dadurch ist die verhältnismässig schwach schützende Wirkung des Serum gegen die ebenso mässig schwach hämolytische Solaninchlorhydrat und die verhältnismässig stark schützende Wirkung gegen die relativ stark hämolytischen Wirkungen von Cyclamin, Saponin, Digitalin zu erklären. Diese Thatsachen sind aus den folgenden Protokollen (S. 422, 423, 424, 425, 426) leicht zu erkennen.

(1) Deutsch. med. Woch. 1901, N° 13.

Diese grosse Anzahl Versuche über die Schutzwirkung des Serum und die Giftigkeit der Glucoside wurde nach sehr mühseligen Orientirungsversuchen, am selben Tag mit demselben Pferdeserum gemacht. Das Pferdeserum wurde erhitzt, weil Vorversuche gezeigt hatten, dass das Serum von selbst löst. In jedem Reagensglas waren 3 c.c. Flüssigkeit, dadurch wird die Concentration des Glucosid auf 1/3 erniedrigt; die weiteren Versuchsbedingungen waren nach Ehrlich u. Morgenroth's Angaben gerichtet.

Schützende Wirkung des Pferdeserum gegen die hämolytische Wirkung von Solan.-HCl auf Kaninchenblut.

1 c.c. Concentr. d. Solan.-HCl	Controlle + 1 c.c. Kochsalz 0,85 % + 1 c.c. 5 % Kaninchenblut Schlamm	+ 1 c.c. Pferdeserum eine Stunde auf 60°C erhitzt + 1 c.c. 5 % Kaninchenblut Schlamm
1 : 1000	complet	complet
1 : 2000	complet	complet
1 : 3000	complet	mässig
1 : 4000	fast complet	wenig
1 : 5000	fast complet	0
1 : 6000		0
1 : 7000		0
1 : 8000		0
1 : 9000		0
1 : 10000		0
1 : 11000	sehr wenig	0
1 : 12000	Spur	0
1 : 13000	Spur	0
1 : 14000	0	0
1 : 15000	0	0

Schützende Wirkung des Pferdeserum gegen die hämolytische Wirkung von Digitalin auf Kaninchenblut.

1 c.c. Concentr. d. Digitalin	Controlle + 1 c.c. Kochsalz 0,85 % + 1 c.c. 5 % Kaninchenblut Schlamm	+ 1 c.c. Pferdeserum eine Stunde auf 60°C erhitzt + 1 c.c. 5 % Kaninchenblut Schlamm
1 : 1000	complet	complet
1 : 2000	complet	complet
1 : 3000	complet	complet
1 : 4000	complet	complet
1 : 5000	complet	o
1 : 6000	complet	o
1 : 7000	complet	o
1 : 8000	complet	o
1 : 9000	complet	o
1 : 10000	complet	o
1 : 11000	complet	o
1 : 12000	complet	o
1 : 13000	complet	o
1 : 14000	complet	o
1 : 15000	complet	o
1 : 16000	complet	o
1 : 17000	complet	o
1 : 18000	complet	o
1 : 19000	complet	o
1 : 20000	complet	o
×		
×		
×		
1 : 50000	wenig	o
×		
1 : 60000	Spur	o
×		
1 : 100000	o	o

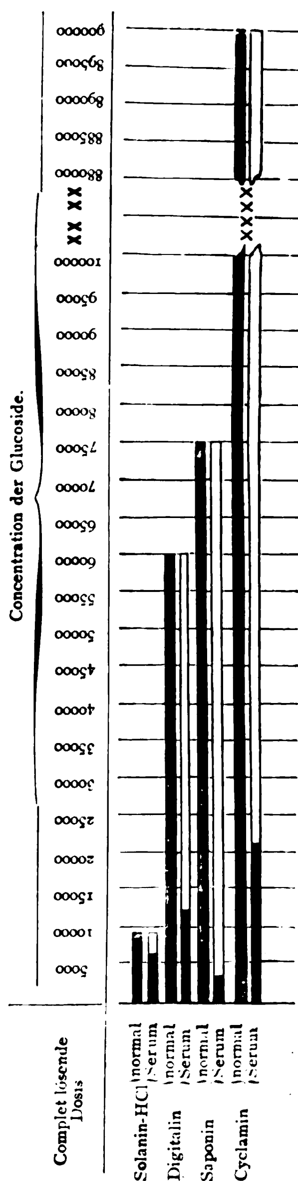
Schützende Wirkung des Pferdeserum gegen die hämolytische Wirkung von Saponin.

1 c.c. Concentr. d. Saponin	Controlle + 1 c.c. 0,85 % Kochsalz + 1 c.c. 5 % Kaninchenblut Schlamm	+ 1 c.c. Pferdeserum eine Stunde auf 60°C erhitzt + 1 c.c. 5 % Kaninchenblut Schlamm
1 : 1000		complet
1 : 2000		
1 : 3000		
1 : 4000		
1 : 5000		
1 : 6000		
1 : 7000		
1 : 8000		
1 : 9000		
1 : 10000		
1 : 11000		
1 : 12000		
1 : 13000	complet	
1 : 14000		
1 : 15000		o
1 : 16000		
1 : 17000		
1 : 18000		
1 : 19000		
1 : 20000		
1 : 21000		
1 : 22000		
1 : 23000		
1 : 24000		
1 : 25000	complet	
×		
×		
×		
1 : 40000	min. Spur	
1 : 50000	o	

Schützende Wirkung des Pferdeserum gegen die hämolytische Wirkung v. Cyclamin.

1 c.c. Concentr. d. Cyclamin	Controlle + 1 c.c. 0,85 °/₀ Kochsalz + 1 c.c. 5 °/₀ Kaninchenblut Schlamm	+ 1 c.c. Pferdeserum eine Stunde auf 60°C erhitzt + 1 c.c. 5 °/₀ Kaninchenblut Schlamm
1 : 1000		complet
1 : 2000		»
1 : 3000		»
1 : 4000		»
1 : 5000		»
1 : 6000		»
1 : 7000		»
1 : 8000		fast complet
1 : 9000		o
1 : 10000		
1 : 11000		
1 : 12000		
1 : 13000	complet	
×		
×		
×		
×		o
×		
×		
×		
×		
1 : 100000		
×		
1 : 200000		
×		
1 : 250000		
×		
1 : 300000		

Die Resultate obiger Versuche könnten in folgendes Schema zusammengefasst werden.



Der Hauptpunkt in EHRLICH's Seitenkettentheorie ist mit POHL's Worten, dass « schon durch quantitative Veränderungen eines normalen (!) Blutbestandteiles, Immunisierungsphänomene bedingt sein könnten ».

Sodass Pohl nicht jetzt erst « das Prinzip festgestellt » zu haben braucht, denn Ehrlich hat dies längst gethan.

Wenn Professor Pohl am Schluss in persönliche Angriffe übergeht, werde ich ihm nicht erwidern, um so weniger als nach einer zweiten Wiederholung seiner Versuche ich mich berechtigt finde, dieselbe als grundfalsch zu betrachten.

Berlin, September 1901.

Istituto farmacologico della R. Università di Palermo
Dir. Prof. V. Cervello.

Influenza di alcune inalazioni medicamentose sulle funzioni della respirazione e della circolazione sanguigna

Ricerche sperimentali

DEI

Dottori VINCENZO TRAINA e GAETANO GRANOZZI.

Nel dare uno sguardo alla ricchissima letteratura sulla terapia inalatoria ci é sembrato di scorgere come, di fronte a numerose osservazioni sugli effetti curativi delle inalazioni medicamentose, siano scarse le notizie che riguardano l'azione di esse sulle funzioni della respirazione e della circolazione sanguigna.

Onde é che principale argomento delle presenti ricerche é stato lo studio delle modificazioni che subiscono tali funzioni, specialmente quella del respiro, sotto l'influenza di alcuni farmaci che più frequentemente si adoperano per la via respiratoria.

Varii sono i metodi per far penetrare i gas nelle vie respiratorie; noi abbiamo lasciato da parte tutti i metodi fondati su apparecchi che fanno penetrare i vapori medicamentosi direttamente nelle vie respiratorie, e invece ci siamo fermati agli ambienti medicati, i quali — a parer nostro — riescono più efficaci. Con gli ambienti medicati infatti gli ammalati possono respirare vapori medicamentosi misti ad aria atmosferica; i farmaci, essendo abbastanza diluiti, possono penetrare liberamente nelle vie respiratorie senza provocare disturbi; il soggiorno degli individui nell'atmosfera medicata si può protrarre a lungo, e sono così evitati gl'inconvenienti che potrebbero nascere da uno svolgimento troppo rapido di vapori.

Noi quindi abbiamo fatto le nostre ricerche preparando gli ambienti, secondo il metodo ideato dal Prof. Cervello per l'igazolo.

Per ottenere lo sviluppo graduale dei farmaci e renderli così tollerabili agli organi del respiro, ci siamo serviti *del vaporogeno* CERVELLO. E'questo un apparecchio di evaporazione, formato essenzialmente di due parti : un cilindro cavo di ottone, che nel suo interno, in corrispondenza del terzo superiore racchiude un bagno-maria, la cui superficie superiore é una piattaforma, e una lampada a spirito. La piattaforma serve ad accogliere la sostanza che deve svaporarsi, ed ha nel centro un'apertura circondata da un manicotto metallico, nel quale s'introduce un tappo di caucciù, attraversato da un cannello di vetro che fa l'ufficio di refrigerante.

Per far funzionare l'apparecchio si riempe incompletamente la caldaia con acqua; sulla piattaforma si pone la sostanza da evaporare, e si accende la lampada ad alcool. Entrando l'acqua in ebollizione, il vapore che sfugge dalla caldaia si ricondensa nel cannello refrigerante, e ricade nella caldaia. Così l'apparecchio con un piccolo consumo di alcool può funzionare per giornate intere senza bisogno di rinnovare l'acqua, e lo sviluppo dei vapori medicamentosi avviene abbastanza gradualmente, in modo che essi si vanno diluendo nell'aria ambiente, permettendo così che l'individuo possa man mano adattarvisi. D'altra parte operandosi in una stanza a porte e finestre chiuse, ma non ermeticamente, l'aria della stanza si va poco a poco caricando di vapori medicamentosi, e, una volta raggiunta una certa concentrazione, questa si mantiene per un certo tempo, poiché l'aria che penetra nella stanza dall'esterno é in quantità limitata, tale da controbilanciare soltanto la tendenza al sovraccaricarsi dell'atmosfera medicata.

I farmaci che abbiamo adoperati sono : l'igazolo, il tomolo, il mentolo e la terebentina.

Quanto all'igazolo, riproduciamo le esperienze che il Prof. CERVELLO comunicò ultimamente al Congresso della tubercolosi, tenutosi nello scorso luglio a Londra(1); così risalterà meglio il parallelo che faremo fra le diverse sostanze da noi studiate.

Gli esperimenti sono stati praticati sull'uomo e sopra alcuni animali (cani e topi).

Esperienze sulla respirazione.

Tanto per l'uomo che per gli altri animali si é proceduto nel seguente modo :

Due alunni dell'Istituto, circa della stessa età (25 anni) e in perfetto

---

(1) La comunicazione del Prof. CERVELLO é stata pubblicata per intero negli Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. IX, fasc. III e IV.

stato di salute, soggiornavano in una stanza di mc. 40,44 ad imposte chiuse. Ogni dieci minuti primi, mentre i soggetti stavano nella più completa calma ed immobilità, si numerava a ciascuno la frequenza degli atti respiratorii. Dopo di avere ottenuto una media costante, si accendeva la lampada del vaporogeno, dove già si erano posti gr. tre della sostanza medicamentosa. Una tale quantità di farmaco era più che sufficiente a formare in quella stanza una atmosfera ricca di vapori, ed era adatta assai bene allo scopo prefissoci. — Man mano che i vapori andavano sviluppandosi, si tornavano a numerare con gli stessi intervalli di prima (10 minuti primi) gli atti respiratorii, prolungando l'osservazione per tutta la durata dell'evaporazione, ed anche per un certo tempo dopo che questa era compita (in media tre ore).

Le variazioni numeriche degli atti respiratorii, sotto l'azione dei diversi farmaci, sono espresse nelle seguenti tavole :

Igazolo.

	Stato normale	DURANTE L'INALAZIONE					
		10 h. 10′	10 h. 20′	10 h. 30′	10 h. 40′	10 h. 50′	11 h.
Alunno A	16	12	12	13	14	16	16
Alunno B	18	15	16	16	17	18	18
Mentolo.							
Alunno A	16	15	16	16	16	16	16
Alunno B	18	17	18	18	18	18	18
Timolo.							
Alunno A	16	18	16	16	16	16	16
Alunno B	18	19	18	18	18	18	18
Terebentina.							
Alunno A	16	19	19	19	18	17	16
Alunno B	18	20	20	20	19	18	18

Dall'esame di queste tabelle si può rilevare che :

1° Sotto l'azione dell'igazolo il numero delle respirazioni si riduce di tre e anche di quattro; però tale abbassamento é di breve durata e si ritorna presto al normale.

2° Con il mentolo, nella graduale assuefazione all'ambiente medicato, il numero delle respirazioni resta perfettamente normale.

3° Per il timolo si ha da principio un aumento di una ed anche di due respirazioni; ma, dopo dieci minuti primi, si ritorna al normale.

4° Con la terebentina finalmente si ha un aumento die due, tre respirazioni, aumento che persiste però per un tempo piuttosto lungo.

In un'altra serie di esperienze abbiamo cercato quale influenza eserciti sulla funzione, presa in esame, uno svolgimento troppo tumultario di gas. Per ottenere ciò si faceva entrare l'individuo in esperimento nella stanza, quando già l'ambiente era completamente medicato, e si procedeva ad intervalli regolari alle numerazione degli atti respiratorii, ponendo in raffronto questi dati con quelli precedentemente ottenuti nell'atmosfera normale.

Il modo di comportarsi della frequenza respiratoria in questa serie di ricerche ci ha fatto rilevare che, contrariamente a quanto si osserva durante lo svolgimento graduale, nel momento dell'ingresso nell'ambiente medicato e durante il periodo che precede allo adattamento, si ha per tutti i farmaci un aumento più o meno cospicuo della frequenza respiratoria, aumento che é legato a fenomeni di eccitazione, che si esercitano sulle prime vie respiratorie.

Oltre a questo aumento nella frequenza respiratoria, i soggetti da noi presi in esame avvertivano bruciore, a volte vivo, agli occhi, al naso, al faringe e alla gola; lacrimazione intensa e alcune volte stimolo a tossire; fatti tutti però che cessavano completamente, man mano che gli individui si assuefacevano all'ambiente medicato.

Questi disturbi sono una prima dimostrazione degli inconvenienti che offre lo svolgimento troppo rapido dei vapori medicamentosi e ci mostrano gli effetti nocivi che deve risentire l'apparato respiratorio, quando in esso penetri direttamente una corrente d'aria medicamentosa, senza precedente assuefazione, come avviene con l'uso delle maschere e di altri apparecchi creati a questo scopo.

Le ricerche furono estese anche agli animali, con lo stesso procedimento di cui sopra si é parlato, per eliminare il dubbio che i risultati riferiti potessero essere falsati dall'intervento di cause pertubatrici. E quindi abbiamo misurato la frequenza respiratoria, sia lasciando abituare gli animali all'ambiente, sia facendoveli penetrare bruscamente.

Riassumiamo brevemente i risultati ottenuti nelle esperienze sui cani.

IGAZOLO. — Non appena l'animale cominciava ad inalare l'aria medicata con l'igazolo, si notava una lieve diminuzione nel numero delle respirazioni, che in media da 17 al 1' raggiungevano una cifra costante media di 13 al 1', cifra che persisteva per un certo tempo e che gradatamente

ritornava al normale. Quando invece l'animale penetrava bruscamente nell'ambiente igazolata, si osservava sempre un aumento negli atti respiratorii.

Mentolo. — Pel mentolo i risultati furono differenti, a secondo che si facevano inalare all'animale i vapori gradatamente ovvero bruscamente, giacchè nel primo caso non si ebbe alcuna modificazione, mentre nel secondo caso si notò sempre una diminuzione di frequenza (in media da 16 a 14 al 1').

Timolo e Terebentina. — Per il timolo e la terebentina si ottennero delle modificazioni del tutto simili a quelle avute per il mentolo.

Era interessante per noi di conoscere, oltre alle variazioni del numero delle respirazioni, quali modificazioni subissero le espansioni toraciche.

In generale possiamo dire che, tanto nell'uomo come negli animali, per l'influenza dell'igazolo, il tracciato delle escursioni respiratorie si mostra notevolmente più ampio (fino al quadruplo), e ciò tanto nel caso dell'assuefazione graduale alle inalazioni, quanto in quello della brusca penetrazione nell'ambiente medicato.

Tale aumento nell'ampiezza delle escursioni toraciche si mantiene assai lungamente, anche molto al di là del momento in cui il numero delle respirazioni ritorna al normale.

Con il mentolo, il timolo e la terebentina abbiamo visto modificazioni di poco conto quando il soggetto in esperimento si abituava gradatamente all'ambiente medicato, mentre invece le espansioni toraciche si facevano assai più ampie quando vi penetrava di un tratto.

Le grafiche relative alle esperienze sull'igazolo sono inserite nel lavoro già citato del Prof. Cervello; quelle ottenute con gli altri farmaci studiati non meritano di essere riprodotte, attesa la poca entità delle modificazioni ottenute durante la graduale assuefazione all'atmosfera medicata, che é quella che trova applicazione nella pratica medica.

E qui vogliamo riferire talune esperienze fatte per vedere quali modificazioni presenta l'innervazione respiratoria. Ci siamo serviti del metodo adoperato dalla maggioranza degli sperimentatori; chiudere cioé la bocca e il naso e notare per quanti secondi si può trattenere il fiato dopo una respirazione normale; provocare con sei o più respirazioni profonde un certo grado di apnea e cercare di nuovo per quanto tempo si può mantenere il fiato.

Noi abbiamo fatto queste indagini prima in condizioni normali e poi nell'atmosfera medicata, servendoci dei due individui che si erano prestati alle richerche precedentemente esposte.

Anche qui abbiamo variato le condizioni sperimentali, ripetendo le prove, sia quando i soggetti si erano gradatamente adattati all'ambiente medicato, sia quando si facevano entrare di un colpo nella stanza da inalazione.

I risultati ottenuti si differenziano ben poco tra loro e per i diversi farmaci. Abbiamo potuto cioé osservare in media una lieve diminuzione nella durata di questo arresto volontario del respiro, e ciò per tutti i farmaci studiati. Ciò non permette di concludere che questi farmaci spieghino un'azione eccitante sul centro respiratorio, poiché dietro le richerche fatte le interpretazioni che potrebbero darsi al fenomeno sono varie. Ed infatti, a parte della influenza non trascurabile della volontà, specialmente quando si tratta di differenze poco notevoli, si potrebbe pensare alla possibilità di una eccitazione esercitata dalle sostenze, non già direttamente sul centro respiratorio, ma sulle terminazioni sensitive dei nervi pulmonari, eccitazione che produrrebbe come effetto un bisogno più frequente di respirare.

Azione sul chimismo respiratorio.

Le notevoli modificazioni, osservate nei movimenti respiratori sotto l'influenza dei farmaci da noi sperimentati, e la conoscenza di proprietà terapeutiche speciali ad alcuni di essi, ci spinsero a ricercare se delle variazioni si stabilissero negli scambii gassosi polmonari.

Crediamo inutile passare in rassegna i diversi metodi ed apparecchi sin oggi adoperati per la determinazione di questi scambj; solo, a giustificare la scelta da noi fatta, facciamo osservare che a noi interessava adottare un metodo di determinazione diretta.

Dopo parecchi tentativi, abbiamo fissato la scelta sul metodo del confinamento, sull'antico e semplice tipo creato dal Lavoisier che, adottato con certe precauzioni, poteva fornirci risultati soddisfacenti. Perciò si ebbe cura di operare in un ambiente abbastanza ampio per soddisfare al bisogno di aria dell'animale, di non prolungare troppo l'esperienza e di procedere sempre in modo rigorosamente comparativo.

Per maggior sicurezza ci siamo accertati, con esperienze preliminari, che gli animali potevano rimanere in quelle condizioni sperimentali per un tempo molto più lungo di quello che si richiedeva per le nostre esperienze, senza mostrare alcun disturbo.

Ci siamo serviti di un grande recipiente di vetro a bocca larga, che chiudevasi ermeticamente per mezzo di un grosso turacciolo di caucciù, attraversato da un tubo che doveva servire per la presa dell'aria, e che,

durante l'esperienza, si teneva chiuso ermeticamente a mezzo di un pezzetto di tubo di gomma chiuso da una pinza.

Come apparecchio per l'analisi abbiamo adottato quello di HEMPEL. La capacità del recipiente era di 10425 c.c., da cui, togliendo 113 c.c. rappresentanti il volume dell'aria spostata dall'animale (topo), si otteneva una capacità netta di 10312 c.c.

Il metodo seguito in queste richerche fu il seguente :

1º Si determinavano le percentuali di acido carbonico e di ossigeno contenuti nell'aria della stanza di esperienza.

2º Si chiudeva l'animale nella campana, e, trascorso il tempo stabilito, si metteva in communicazione il tubo dell'apparecchio di HEMPEL con il tubo di caucciù della campana, si apriva la pinzetta e si faceva una prima presa di aria, aspirandola direttamente con la buretta di HEMPEL dal tubo che attraversa il turacciolo. Si determinava così per un dato volume di aria il contenuto in acido carbonico ed in ossigeno. In questo modo si conosceva quale era la quantità di ossigeno inalato dall'animale e quale la quantità di acido carbonico eliminato.

3º Si rimetteva l'animale dentro la campana riempita di vapori medicamentosi, che si facevano penetrare, a mezzo di un soffietto, dopo aver preparato nel modo come é noto la stanza da inalazione. Si lasciava soggiornare l'animale nella campana per lo stesso periodo di tempo, indi si ripeteva la determinazione come sopra.

Tutte e tre le operazioni erano fatte nello stesso giorno.

Così si aveva un criterio abbastanza esatto dell'influenza che il farmaco esercita sopra l'ossigeno inalato e l'acido carbonico eliminato dall'animale.

C'era sorto il dubbio che i risultati potessero essere falsati da una possibile azione dei vapori dei farmaci adoperati sulla potassa e sul pirogallato potassico dell'apparecchio di HEMPEL, e avevamo già pensato di interporre tra questo apparecchio e la campana delle soluzioni capaci di trattenere i vapori medicamentosi.

Però potemmo avere la sicurezza che questo timore era infondato. Difatti furono praticate parecchie prove preliminari, analizzando l'aria della stanza in condizioni normali e dopo di averla medicata. In tutti e due i casi si ottennero sempre esattamente le stesse percentuali di ossigeno e di acido carbonico.

Non fu quindi necessario di complicare l'apparecchio e fu fatta passare direttamente l'aria medicata dalla campana alla buretta di HEMPEL.

Per le nostre esperienze abbiamo scelto animali piccoli (topolini) che venivano sottoposti per un certo tempo a dieta costante, sia

per la quantità e qualità, sia per l'ora di somministrazione del pasto.

Per ciascun farmaco abbiamo ripetuto più volte la stessa esperienza, e abbiamo ottenuto sempre risultati quasi identici.

Per essere completi abbiamo voluto poi, moltiplicando i risultati in volume per 1,43 (peso specifico dell'O) e per 1,965 (peso speoifico dell'OC_2) ridurli in grammi, e quindi con operazioni consecutive li abbiamo riferiti ad un'ora e ad un chilogrammo di animali.

Questi risultati si trovano racchiusi nella presente tavola.

TAVOLA I.

Peso del topo	Aria atmosferica	O consumato in volume per 1 ora ed 1 kgr.	CO_2 emesso	O calcolato in grammi	CO_2 calcolato in grammi	Aria medicata con	O in volume	CO_2 in volume	O calcolato in grammi	CO_2 calcolato in grammi
gr. 138	normale	7,73	6,69	0,272	0,326	Igazolo	8,74	8,98	0,308	0,436
»	»	8,76	6,46	0,311	0,331	Mentolo	7,89	6,64	0,275	0,311
»	»	7,02	6,53	0,318	0,346	Timolo	6,79	7,49	2,206	0,36
»	»	6,75	7,19	0,239	0,239	Terebentina	6,89	7,25	0,245	0,354

Dal quadro sopra riportato si può rilevare come l'animale, posto a respirare aria medicata con i vapori di Igazolo e terebentina, consumi O ed emetta CO_2 in quantità maggiore che nell'atmosfera normale, differenza che per l'Igazolo arriva a gr. 0,036 per ora e per Kgr. di animale, mentre per la terebentina é di soli gr. 0,006.

Invece i vapori di tomolo e di mentolo diminuiscono il consumo di ossigeno e l'emissione di acido carbonico.

AZIONE SUGLI SCAMBI GASSOSI DEI TESSUTI.

I resultati forniti dalle esperienze precedenti ci invogliarono a ricercare l'azione delle sostanze, da noi prese in esame, sugli scambi gassosi dei tessuti.

E noto che, allorquando in uno spazio chiuso si pongono frammenti di muscoli o di altri tessuti, si costata, dopo un certo tempo, che l'ossigeno é diminuito in questo spazio e che l'acido carbonico é aumentato. Queste esperienze, che appartengono allo SPALLANZANI e poi al LIEBIG, e che furono in appresso ripetute specialmente da P. BERT, mostrano che si stabilisce uno scambio di gas tra i tessuti e il mezzo atmosferico, scambio della stessa natura e nello stesso senso di quello della respirazione pulmonare.

Per le nostre esperienze abbiamo scelto sangue die bue e frammenti di tessuti di rana.

In una bottiglia, della capacità di 750 c.c., chiusa con tappo di gomma, attraversato da un tubo di vetro, terminato a sua volta con un tubo di caucciù chiuso da una pinza, si ponevano 150 c.c. di sangue defibrinato. In un'altra bottiglia, della stessa capacità della prima e disposta come questa, si poneva la stessa quantità di sangue, attraverso cui si faceva passare, per mezzo di un soffietto e per la durata di cinque minuti primi, l'aria medicata della stanza. Indi le bottiglie venivano chiuse.

Dopo un tempo variabile (da 17 a 21 ore) ma sempre uguale in ogni singola esperienza per le due bottiglie, si dosava per mezzo dello apparecchio di HEMPEL l'acido carbonico e l'ossigeno nei due fiaschi. Dobbiamo far notare che dell'aria atmosferica, di cui ci siamo serviti per le nostre esperienze, conoscevamo, per averla determinata avanti, la quantità di ossigeno e di acido carbonico contenutivi.

Di questi dati ci siamo serviti per lo svolgimento dei calcoli.

TAVOLA II.

Quantità del sangue	Aria atmosferica	Durata della respirazione	O consumato in volumi	CO_2 emesso	O calcolato in grammi	CO_2 calcolato in grammi	Aria medicata con	O consumato in volumi	CO_2 emesso	O calcolato in grammi	CO_2 calcolato in grammi
c.c. 150	normale	21 h.	4,22	3,44	1,149	1,286	Igazolo	4,32	4,30	1,616	1,609
»	»	20 h.	8,41	5,78	2,28	2,16	Mentolo	7,98	5,47	2,17	2,04
»	»	20 h.	3,50	3,60	1	1,41	Timolo	3,15	2,64	0,9	1,03
»	»	21 h.	3,99	2,98	1,34	1,47	Terebentina	5,31	3,52	1,78	1,62

Anche nella respirazione dei tessuti il consumo di ossigeno aumenta per influenza dell'Igazolo e della terebentina di pari passo che cresce l'eliminazione di acido carbonico. E difatti con l'igazolo la differenza viene ad essere di 0,467 in più, per la terebentina di 0,440 gr.

Per il timolo e per il mentolo invece si ha un minore consumo, rappresentato per il primo farmaco di 0,10 e per il mentolo di 0,11 gr.

La stessa esperienza fu ripetuta, sostituendo al sangue dei pezzetti di rana dissanguata.

TAVOLA III.

Peso delle rane	Aria atmosferica	Durata della respirazione	O consumato	CO_2 emesso	O calcolato in grammi	CO_2 calcolato in grammi	Aria medicata con	O in volume	CO_2 in volume	O calcolato in grammi	CO_2 calcolato in grammi
gr. 21	normale	22	3,53	3,67	4,916	7,024	Igazolo	5,90	6,62	8,217	12,67
» 25	»	22	2,64	2,80	4,08	6	Mentolo	1,88	2,10	2,92	4,48
» 30	»	20	4,53	4,82	6,46	9,46	Timolo	1,77	2,56	2,53	5
» 28	»	17	1,95	2,27	4,61	7,47	Terebentina	2,26	2,79	5,42	9,19

Come si vede, si ottennero risultati sempre conformi ai precedenti.

Esperienze sulla circolazione.

Le nostre ricerche sulle possibili modificazioni della circolazione sanguigna, durante l'inalazione dei farmaci adoperati, ebbero poco svolgimento, perché fin da principio ci accorgemmo che ben lievi erano le modificazioni presentate. E difatti per l'igazolo e la terebentina non si nota nemmeno modificazione nella frequenza cardiaca, tranne che un lieve aumento, della durata di pochi secondi, solo quando si entra di un tratto nell'ambiente medicato.

Per il mentolo si ha una lieve, ma permanente, diminuzione della frequenza, fatto che é ancora più accentuato col timolo.

Anche la pressione sanguigna, che abbiamo misurata sui cani, non presenta modificazioni degne di nota sotto l'influenza dell'igazolo, della terebentina e del mentolo, solo il timolo produsse un moderato abbassamento.

Da queste esperienze possiamo dunque dedurre alcune considerazioni che riguardano, non soltanto l'influenza che alcuni farmaci, somministrati per inalazione, spiegono sulla funzione respiratoria e sullo organismo in generale, ma anche i vantaggi che si ottengono dalle inalazioni fatte in ambienti medicati sopra quelle praticate con altri metodi.

Relativamente alla loro azione, le quattro sostanze da noi studiate possono dividersi in due gruppi; all'uno appartengono l'igazolo e la terebentina, all'altro il mentolo e il timolo; fra questi due gruppi esistono delle differenze fondamentali, per cui non si possono confondere le loro applicazioni terapeutiche.

L'igazolo e la terebentina, quest'ultima in grado assai minore, accrescono le escursioni toraciche, attivano lo scambio gassoso nei

polmoni, come in tutti i tessuti dell'organismo, moderano un po' la frequenza respiratoria e riescono anche come sedativi dell'innervazione pulmonare. Se ne deduce che le loro applicazioni terapeutiche non si limitano ad alcune affezioni delle vie respiratorie, ma si debbono anche estendere a malattie del ricambio materiale, rispetto al quale le nostre esperienze sono ancora incomplete, ma saranno bentosto riprese.

Quanto alle affezioni respiratorie non crediamo di dovere entrare in particolari; rileviamo soltanto che l'igazolo e la terebentina devono riuscire efficaci nei casi in cui é affievolita l'attività respiratoria, sia nei suoi movimenti come nel suo chimismo, e che debbono parimenti rendere utili servigi come sedativi. Evidentemente l'igazolo é assai più attivo della terebentina.

Nello accennare alle possibili indicazioni terapeutiche dell'igazolo, non abbiamo creduto d'intrattenerci sopra le singole malattie contro le quali questo farmaco sarebbe indicato; quindi non siamo entrati nella disamina del modo come l'igazolo agisce contro la tuberculosi pulmonare, dapoiché, come dice il Prof. Cervello nella sua prima nota *sulla teoria di azione dell'igazolo*(1), questo studio non é completo, occorrendo in proposito nuove esperienze. Però é certo che le modificazione indotte dall'igazolo sopra la funzione respiratoria e su tutto l'organismo sono assai rilevanti e di natura opposta a quelle che determina il processo tubercolare, per cui é lecito detrarne fin d'ora che tendano a neutralizzare queste ultime o ad opporsi alla loro insorgenza.

Il mentolo e il timolo costituiscono un altro gruppo; essi non aumentano le escursioni respiratorie, e invece di attivare gli scambi gassosi li diminuiscono. Dunque le loro applicazioni terapeutiche debbono essere ben diverse, ma su queste non possiamo dedurre conclusioni sicure.

Finalmente le nostro esperienze ci autorizzano ad affermare che ai comuni metodi di inalazione sia da preferire l'uso degli ambienti medicati. Difatti abbiamo visto come con questi non si presentano disturbi respiratorii, mentre d'altra parte si ottengono effetti più completi e duraturi.

Oltre a ciò, sono da tener presenti altri vantaggi, anch'essi di non poco interesse, cioé a dire la maggiore tolleranza anche per sostanze assai irritanti, la possibilità di fare agire il farmaco per parecchie ore, e di operare anche nella notte e durante il sonno.

Palermo, Decembre 1901.

---

(1) Archives internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. IX, fasc. III e IV.

Aus dem experimental pathologischen Institute des Hofrath Professor Dr Spina in Prag.

Ueber die Einwirkung des Tetramethylammoniumchlorids auf den Blutkreislauf(1)

von

Dr Emanuel FORMÁNEK,

Docent für medicinische Chemie und Oberinspektor der k.k. Lebensmitteluntersuchungsanstalt an der böhmischen Universität in Prag.

In meiner Abhandlung « Ueber die Einwirkung von Ammoniumsalzen auf den Blutkreislauf und das musculomotorische System » und « Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung des Mono-, Di- und Trimethylaminchlorhydrats auf den Blutkreislaut mit Bezug auf die chemische Constitution dieser Verbindungen(2) » wurde von mir die Einwirkung der Ammoniumsalze, des Mono-, Di- und Thrimethylaminchlorhydrats auf Herz und Blutkreislauf geschildert. In vorliegender Abhandlung soll die Beeinflussung des Kreislaufes durch das Tetramethylammoniumchlorid mitgetheilt werden.

Werden in dem hypothetischen Ammoniumhydroxyde alle vier Wasserstoffe durch Methylgruppen ersetzt, entsteht das stark basische Tetramethylammoniumhydroxyd. Die Salze dieser Base entstehen durch direkte Vereinigung des Trimethylamins z. B. mit Alkyljodiden.

Bei der Gewinnung der sonstigen Tetramethylammoniumsalze wird von Jodiden ausgegangen, indem man sie einer doppelten Umsetzung mit Silbersalzen unterwirft.



$$(CH_3)_4I + AgCl = (CH_3)_4Cl + AgI.$$

Das in unseren Versuchen benützte Tetramethylammoniumchlorid

(1) Vorgelegt der böhm. kaiser. Franz Josef's Akademie.

(2) Arch. intern. de Pharmacodynamie et de Thérapie, 1900, vol. VII, p. 229 et 335.

bildete rein weisse, zerfliessliche Nadeln und wurde in einer wässerigen 20 %igen Lösung benützt.

Ueber die Wirkung von Tetramethylammoniumchlorid berichtet eine Arbeit von A. JODLBAUER (1).

Der Verfasser arbeitete an Kalt- und Warmblütern mit ziemlich geringen Dosen. Was die Wirkung auf den Blutdruck anbelangt, entnehmen wir folgendes : « Gaben von 0,003 (beim Kaninchen pro Kilo subcutan) brachten Frequenz und Intensität der Athemzüge zum Absinken. Zugleich fiel der Blutdruck und verringerte sich die Zahl der Herzschläge. Durch Bauchaortenkompression stieg der Blutdruck an, jedoch nicht zur ursprünglichen Höhe. Das Absinken wird also von centraler oder peripherer Lähmung der Vasomotoren herrühren. Die Leistungsfähigkeit des Herzens scheint nicht beeinflusst zu sein; denn nach dem Absinken des Blutdruckes bringen auch grosse Giftdosen keine weitere Veränderung mehr hervor. War die Respiration zum Stillstande gekommen, so brachte die künstliche Respiration den Blutdruck nicht mehr zum Steigen. »

Intravenöse Injektionen von 0,001—0,002 ergaben folgende Wirkung auf den Kreislauf : « Der Blutdruck fiel stark ab, oft bis auf 20 mm. Hg unter Auftreten hoher Vaguspulse. Dieselben schwanden allmählig und der Blutdruck stieg im Laufe einiger Minuten wieder zur ursprünglichen Höhe an. Wurden die Vagi durchschnitten, so waren die Pulselevationen viel geringer, ebenso die Blutdrucksenkung. Derselben schloss sich meist ein Ansteigen über die ursprüngliche Höhe an. Nach mehrmals wiederholten Injektionen, nachdem die im Körper befindliche Giftmenge die Atmung bereits stark geschädigt hat, und künstlich respirirt werden musste, blieb die Blutdrucksenkung längere Zeit bestehen. Das Ansteigen erfolgt dann ganz allmählig und nicht mehr bis zur Ausgangshöhe. So sinkt der Blutdruck bei jeder neuen Injektion mehr und mehr ab. Es stellen sich hohe Pulse ein, die vom Vagus unabhängig sind, da derselbe bereits elektrisch unerregbar ist. Auch grosse Giftmengen bleiben in diesem Stadium wirkungslos.

» Bei einigen kymographischen Versuchen traten nach Vagusdurchschneidung nur mehr geringe Pulsevelationen auf; der Blutdruck blieb unverändert, oder stieg sogar an. Stets kam es zur Blutdrucksteigerung, wenn die Vagusenden durch Atropin gelähmt waren.

» Dieses Ansteigen des Blutdruckes ist sehr bedeutend, von 108 mm. Hg auf 162, aber rasch vorübergehend. Werden grössere Mengen injiciert,

(1) Archives internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie, 1900, vol. VII, p. 183.

so folgt demselben ein rasches Absinken unter die ursprüngliche Druckhöhe. Auch dieses verschwindet anfänglich rasch wieder; es hält dagegen lange an bei grösseren Dosen, welche die Atmung zum Stillstand bringen.

» Fassen wir die Wirkung des Tetramethylammoniumchlorids auf den Kreislauf zusammen, so findet eine starke Reizung des Vagus statt und zwar central wie peripher; zugleich aber auch eine starke Erregung der Gefässnervencentren. Bei grösseren Mengen folgt dieser Erregung der Gefässnervencentren eine Lähmung, wie auch die Vagusendigungen gelähmt werden. Die mit der Substanz angestellten kymographischen Versuche lagen nicht alle so klar wie die hier mitgetheilten. Es hängt dies davon ab, dass bald die Wirkung, welche die Erregung der Vagi hervorruft, bald die durch die Erregung der Gefässnervencentren erzeugte in den Vordergrund tritt und dass bald der Vagus eher gelähmt wird, bald die Gefässnervencentren. »

Meine Untersuchungen beziehen sich zum Unterschiede von denen JODLBAUER's auf die Wirkung von stärkeren Gaben der Tetramethylverbindung. Es wird sich aus dem Folgenden ergeben, dass, obwohl die Versuchsbedingungen in vielen Stücken different sind, ich trotzdem in der Lage bin, einzelne Beobachtungen JODLBAUER's, namentlich jene in Bezug auf den Vagus und auf die Einwirkung wiederholter Injektion, zu bestätigen.

Versuch I.

Hund. Injection von 1 c.c. Curare, künstliche Lungenventilation, rechte Carotis mit dem Kymograph verbunden. Injection von 20 %-iger Lösung des Tetramethylammoniumchlorids in die Schenkelvene.

VERSUCH	Pulsfrequenz in 6 Secunden	Veränderung der Pulsfrequenz in %	Blutdruck in mm. Hg.	Veränderung des Blutdruckes in %	ANMERKUNG
Vor der injection. . . .	11		50		
Injection von 4 c.c. . . .			190	Anstieg um 280 %	der Anstieg dauerte kurz.
	8 hohe Wellen	Verlangsamung um 27 %	dann 84		
			dann 106	Anstieg um 112 %	
Durchtrennung der Vagi .	4		98		
Injection von 1 c.c. Atropin	21		230		
Nach folgender Chloridinj. verendete das Thier					

Der Versuch lehrt, dass das Tetramethylammoniumchlorid, intravenös injicirt, den Blutdruck erhöht, dann erniedrigt und hierauf abermals über den Ausgangspunkt hinaus erhöht und den Puls retardirt, wobei hohe und seltenere Wellen von dem Manometer verzeichnet werden. Denselben Erfolg hatte auch die Injection in dem folgenden Versuche, nachdem die beiden Vagosympathici durchtrennt worden waren. Die Pulsretardation kann demnach nicht durch Einwirkung des Tetramethylammoniumchlorids auf die Vaguscentra erklärt werden (1).

Versuch II.

Hund. Injection von 1 c.c. Curare, künstliche Lungenventilation, rechte Carotis mit dem Kymograph verbunden. *Durchtrennung der Vagi.* Injection von 20 %-iger Lösung des Tetramethylammoniumchlorids in die Schenkelvene.

VERSUCH	Pulsfrequenz in 6 Secunden	Veränderung der Pulsfrequenz in %	Blutdruck in mm. Hg.	Veränderung des Blutdruckes in %	ANMERKUNG
Vor der Injection . . .	24		190		
Injection von 4 c.c. . . .			210	Anstieg um 10 %	
			dann 22	Abfall um 88 %	
	7 hohe Wellen	Verlangsamung um 71 %	später 120	Abfall um 37 %	
Injection von 1 c.c. Atropin	37		254		
Vor der Injection. . . .	die Curve wird undeutlich geschrieben		244		
Injection von 2 c.c. . . .			260	Anstieg um 6 %	die Veränderung war von kurzer Dauer.
			dann 230	Abfall um 5 %	
	dann 36		später 288	Anstieg um 18 %	
Vor der Injection . . .	36		288	Anstieg um 1 %	die Veränderung dauerte kurz.
Injection von 4 c.c. . . .			290		
	30 kleine Wellen	Verlangsamung um 20 %	dann 190	Abfall um 34 %	
			später 310	Anstieg um 13 %	
Vor der Injection. . . .	17		280	Anstieg um 1 %	die Veränderung war von kurzer Dauer.
Injection von 5 c.c. . . .	arythmisch		284		
	dann 29	Beschleunigung um 70 %	dann 150	Abfall um 46 %	
	später unzählbar		später 310	Anstieg um 11 %	

Durch den mitgetheilten Versuch wird des Weiteren gezeigt, das nach

(1) Die erste Injection gibt die geschilderte Einwirkung am besten zu erkennen.

Vergiftung des Thieres mit Atropin die Pulsretardation ganz unbedeutend wird und dass die hohen Pulswellen verschwinden. Es kann sich sogar, wie die letzte Injection lehrt, ereignen, dass die Pulsverzögerung bei den atropinisirten Thiere nach Injection des Tetramethylammoniumchlorids einer Pulsbeschleunigung mit kleinen Pulswellen Platz macht.

In anderen Fällen habe ich die Vagi, während die hohen und seltenen Pulswellen geschrieben wurden, als demnach die Vagusreizung eingetreten war, durchschnitten. Die Pulswellen erlitten aber keine Aenderung. Wurde aber während der Vagusreizung das Thier atropinisirt, so verschwanden die hohen und seltenen Wellen und machten einer Pulsacceleration Platz.

Es kann demgemäss in Bezug auf die Pulsretardation ausgesagt werden, dass dieselbe *durch Reizung des peripheren Vagusapparates von Seite des Tetramethylammoniumchlorids bedingt wird. Die injicirte Substanz gibt somit eine dem Muscarin analoge Wirkung zu erkennen.* Dieselbe tritt zumeist nur nach der ersten Injection klar zu Tage.

Die Beeinflussung des Blutdruckes durch das Tetramethylammoniumchlorid erleidet, wie der eben mitgetheilte Versuch lehrt, weder durch die Vagotomie noch durch die Atropinisirung eine wesentliche Aenderung. Auch nach Durchschneidung des verlängerten Markes gelangt, wie aus dem folgenden Experimente zu ersehen sein wird, die früher beschriebene Einwirkung des Tetramethylammoniumchlorids auf den Blutdruck in ungestörter Weise zur Beobachtung. Nur nach wiederholten Injectionen kann es sich ereignen, wie das folgende Protokoll in Bezug auf die letzte Injection lehrt, dass die zweite — das heisst die der Depression — Drucksteigerung nicht eintrit, sondern sich die Depression nur ausgleicht.

Versuch III.

Hund. Injection von 1 c.c. Curare, künstliche Lungenventilation, rechte Carotis mit dem Kymograph verbunden. *Durchtrennung des verlängerten Markes.* Atropininjection. Injection von 20 %-iger Lösung des Tetramethylammoniumchlorids in die Schenkelvene.

VERSUCH	Pulsfrequenz in 6 Secunden	Veränderung der Pulsfrequenz in %	Blutdruck in mm. Hg.	Veränderung des Blutdruckes in %	ANMERKUNG
Vor der Injection . . .	28		68		
Injection von 4 c.c. . . .	unzählbar		178	Anstieg um 163 %	
	dann 30	Beschleunigung um 7 %	dann 90		
	später 28		später 160	Anstieg um 135 %	
	kleineWellen				
Vor der Injection . . .	28		160		
Injection von 6 c.c. . . .	unzählbar		190	Anstieg um 18 %	der Anstieg dauerte kurz.
	dann 30	Beschleunigung um 7 %	dann 60	Abfall um 62 %	
	später 26	Verlangsamung um 7 %	später 210	Anstieg um 31 %	d. Anstieg geschieht langsam.
	kleineWellen				
Vor der Injection . . .	26		210		
Injection von 6 c.c. . . .	unzählbar		224	Anstieg um 6 %	der Anstieg dauert kurz.
	dann 28	Beschleunigung um 7 %	dann 90	Abfall um 57 %	
	später 30	Beschleunigung um 15 %	später 216	Anstieg um 3 %	der Druck steigt langsam.
	kleineWellen				
Vor der Injection . . .	30		216		
Injection von 10 c.c. . .	unzählbar		230	Anstieg um 6 %	der Anstieg war von kurzer Dauer.
	dann 25	Verlangsamung um 16 %	dann 80	Abfall um 63 %	
			später 210		
	kleineWellen				

Dass die Pulsverlangsamung unter Erhöhung der Pulswellen in diesem Versuche nicht eingetreten ist, wird durch den Hinweis auf das früher Mitgetheilte begreiflich, denn bei dem Thiere war der Endapparat des Vagus durch Atropin gelähmt.

Betreffs der Veränderungen der Blutdruckscurve wurde bis jetzt gezeigt, dass der Anstieg und die ihm folgende Depression mit dem Wiederansteigen des Blutdruckes weder durch die Vagotomie noch durch Zerstörung des verlängerten Markes wesentlich geändert wird.

Im folgenden Versuche soll dargethan werden, dass auch nach Zerstörung des verlängerten und des ganzen übrigen Markes das Tetramethylammoniumchlorid den Blutdruck in analoger Weise beeinflusst wie beim intakten Thiere. Die Zertrümmerung des Markes wurde nach der von SPINA (PFLÜGER's Archiv, Bd. 76) angegebenen Methode ausgeführt.

Versuch IV.

Hund. Injection von 1 c.c. Curare, künstliche Lungenventilation, rechte Carotis mit dem Kymograph verbunden. *Durchtrennung und Ausbohrung des ganzen Rückenmarkes* und intraarterielle Injection von physiologischen Kochsalzlösung. Injection von 20 %-iger Lösung des Tetramethylammoniumchlorids in die Schenkelvene.

VERSUCH	Pulsfrequenz in 6 Secunden	Veränderung der Pulsfrequenz in %	Blutdruck in mm. Hg.	Veränderung des Blutdruckes in %	ANMERKUNG
Vor der Injection . . .	kleine Wellen		82		
Injection von 3 c.c. . . .	kleine, allmählig grosser werdende Wellen		142	Anstieg um 73 %	
			dann 40	Abfall um 51 %	
	hohe Wellen		dann 120	Anstieg um 45 %	
Atropininjection	Verschwinden der hohen Wellen		196		
Vor der Injection . . .	kleine Wellen		120		
Injection von 4 c.c. . . .			126	Anstieg um 5 %	der Anstieg von kurzer Dauer.
			dann 88	Abfall um 27 %	der Abfall dauerte länger.
			später 164	Anstieg um 37 %	
Vor der Injection . . .			164		
Injection von 5 c.c. . . .			170	Anstieg um 3 %	der Anstieg war von kurzer Dauer.
			dann 106	Abfall um 35 %	
			später 150	Abfall um 8 %	

Trotz der Zertrümmerung der Oblongata und des ganzen Rückenmarkes sehen wir nach den ersten Injectionen des Tetramethylammoniumchlorids den Blutdruck beträchtlich — um 73 % — steigen, dann fallen und hierauf wieder steigen. Die folgenden Injectionen wirken in ähnlicher Weise, aber nicht mehr so intensiv. Es kann demgemäss weder die initiale Drucksteigerung noch die ihr folgende Depression noch der hierauf eintretende Blutdruckanstieg durch centrale vasomotorische Vorrichtungen allein bewirkt sein.

Die Blutdrucksteigerung kann das Tetramethylammoniumchlorid somit in erster Reihe *durch Einwirkung auf die peripheren vasoconstrictorischen Apparate* hervorrufen und zwar ist dieselbe eine beträchtliche.

In Bezug auf die in diesem Versuche eingetretene Aenderung der Pulsfrequenz ist zu bemerken, dass dieselbe mit der Behauptung, dass das Tetramethylammoniumchlorid den Endapparat des Vagus reizt, im vollen Einklange steht. Das Herz war in diesem Versuche vom centralen Nervensysteme, durch die Zerstörung des Markes isolirt, der periphere Vagusapparat aber intakt. Demgemäss bewirkte das Tetramethylammoniumchlorid eine deutliche Retardation der Herzarbeit unter Erhöhung der Pulswellen. Nach der hierauf folgenden Atropinisirung aber hat sich die Retardation nicht mehr eingestellt. Es empfiehlt sich, um die Wirkung des Tetramethylammoniumchlorids auf die peripheren vasoconstrictorischen Apparate gut zu sehen, die Vaguswirkung durch Atropinisirung auszuschalten, da dann die Druckdepression, welche im Gefolge Vaguswirkung eintreten kann, ausbleibt.

Es wurde oben gesagt, dass das Tetramethylammoniumchlorid die peripheren vasoconstrictorischen Apparate und zwar höchstwahrscheinlich jene im Splanchnicusgebiete erregt. Um über die Berechtigung dieser Vermuthung sicheren Aufschluss zu erhalten, wurde das Splanchnicusgebiet nach der Methode SPINA's aus dem Kreislaufe durch Unterbindung aller Bauchorgane ausgeschieden. Falls der Blutdruck nach der Operation zu gering war, es war dies aber nicht immer der Fall, wurde eine intraarterielle Infusion von warmer physiologischer Kochsalzlösung zur Hebung des Blutdruckes und Verstärkung des Herzschlages ausgeführt. Die Methode für die Ausschaltung des Splanchnicus wurde in meiner ersten oben angeführten Publication näher beschrieben. Ich theile hier nur einen Versuch protocollarisch mit.

Versuch V.

Hund. Injection von 1 c.c. Curare, künstliche Lungenventilation, rechte Carotis mit dem Kymograph verbunden. *Unterbinding der Aorta (unter dem Zwerchfell) sowie sämmtlicher Bauchorgane.* Atropininjection. Injection von 20 %-iger Lösung des Tetramethylammoniumchlorids, in die Jugularvene.

VERSUCH	Pulsfrequenz in 6 Secunden	Veränderung der Pulsfrequenz in %	Blutdruck im mm. Hg.	Veränderung des Blutdruckes in %	ANMERKUNG
Vor der Injection . . .	kleine Wellen		190		
Injection von 5 c.c. . . .			160	Abfall um 16 %	
			dann 220	Anstieg um 16 %	

Der Versuch lehrt, dass nach Ligirung der Bauchorgane, also nach Ausschaltung des Splanchnicusgebietes, die initiale Blutdrucksteigerung

nicht eintritt und die zweite der Depression folgende Druckerhebung schwächer ausfällt als sonst. Daraus folgt, dass es thatsächlich die peripheren vasoconstrictorischen Vorrichtungen des Splanchnicusgebietes sind, welche vorzugsweise von dem Tetramethylammonium beeinflusst wurden; es sind aber auch die Gefässe in anderen Gebieten an der Steigerung des Blutdruckes mitbetheiligt, denn bei der Wiederholung des beschriebenen Versuches habe ich gefunden, dass oft auch die initiale Drucksteigerung nicht ausbleibt.

Es ist nicht unbedingt nothwendig, die Bauchorgane zu eliminiren, es reicht zu Demonstrationszwecken auch hin, nach dem Vorgange von HEIDENHAIN, die Bauchaorta zu ligiren. Aber ich habe der Unterbindung der Bauchorgane den Vorzug gegeben, weil durch dieselbe etwaige Gefässanastomosen vollständig ausgeschaltet werden und erst nachdem ich mich überzeugt hatte, dass die Versuche nach Unterbindung der Bauchorgane dasselbe Resultat ergeben, wie jene mit Ligirung der Aorta, habe ich auch nach der Methode HEIDENHAIN's gearbeitet. Der folgende Versuch ist nach der letzteren Arbeitsweise ausgeführt worden.

Versuch VI.

Hund. Injection von 1 c.c. Curare, künstliche Lungenventilation, rechte Carotis mit dem Kymograph verbunden. Atropinisirung. Injection von 20 % Lösung des Tetramethylammoniumchlorids in die Jugularvene.

VERSUCH	Blutdruck in mm. Hg.	Veränderung des Blutdruckes in mm. Hg.
Unterbindung der Aorta thoracica etwas über dem Zwerchfell		
Vor der Injection. . . .	154	
Injection von 5 c.c. . . .	162	Anstieg um 4 %
	dann 120	Abfall um 22 %
	später 165	Anstieg um 7 %

Nebenbei möchte ich im Anschlusse an den eben mitgetheilten Versuch bemerken, dass ich in einem Versuche die Ligirung der Aorta auch an einem Hunde mit zerstörtem Rückenmarke und Gehirne ausgeführt habe. Daraus kann ersehen werden, was für einen belebenden Einfluss auf Herz und Kreislauf die intraarterielle Kochsalzlösung hat. Dieser Einfluss ist in Bezug auf das Tetramethylammonium umso bemerkenswerther, als ich zeigen werde, dass die genannte Substanz auf die

Herzarbeit eine schädigende Einwirkung äussert. Es ist aber die intraarterielle Infusion nur bei curarisirten Hunden gut zu verwenden, da bei Thieren mit intacten Muskelnervenenden durch die Infusion Krämpfe hervorgerufen werden.

Es wurde oben mitgetheilt, dass das Tetramethylammonium auch eine Depression des Blutdruckes bewirkt, eine Eigenthümlichkeit, welche diese Substanz mit den Ammoniumsalzen und den Chlorhydraten des Mono-, Di- und Trimethylamins gemeinsam hat.

Aus den bis jetzt mitgetheilten Protocollen folgt des Weiteren, dass diese Depression auch nach der Vagotomie, Atropinisirung, nach der Zerstörung der Medulla oblongata sowie nach der Zerstörung des ganzen Rückenmarkes in Folge der Injektionen des Tetramethylammoniums in Erscheinung tritt. Dieselbe ist aber auch nach Ausschaltung des Splanchnicusgebietes, ob diese nun nach den Angaben HEIDENHAIN's oder SPINA's ausgeführt wird, ausnahmslos zu beobachten.

Daraus ist zu folgern, dass dieselbe nicht durch vasomotorische Centra und auch nicht durch die peripheren vasomotorischen Apparate des Splanchnicusgebietes bewirkt werden kann. Es könnte nur noch mit der Vermuthung gerechnet werden, dass der Druckabfall durch Erregung der peripheren vasodilatorischen Vorrichtungen oder durch Schwächung der peripheren vasoconstrictorischen Apparaten von Gefässen, welche ausserhalb des Splanchnicusgebietes liegen, oder durch directe Beeinflussung des Herzens selbst hervorgerufen wird.

Um über diese Frage in's Klare zu kommen, habe ich bei curarisirten Hunden das Splanchnicusgebiet durch Ligirung der Bauchorgane ausgeschaltet, das Thier atropinisirt und in die Jugularvene kopfwärts eine Canule, um den Ausfluss des Blutes aus ihr beobachten zu können, eingeführt. Es zeigte sich nun, dass nach Injection des Tetramethylammoniums, wenn der Blutdruck deutlich gefallen war, der Ausfluss aus der Canule abgenommen hat.

Daraus ist zu ersehen, dass die Depression nicht durch Erweiterung des Gefässystems bedingt wird. Das Tetramethylammonium muss direct auf das Herzfleisch oder die Herzganglien einwirken, die Herzarbeit schwächen, sodass infolge dessen der Blutdruck unter die Höhe, die er vor der Injection eingenommen hat, fällt. Das Tetramethylammoniumchlorid wirkt demgemäss, wie die oben genannten, ihm nahestehenden Substanzen, wie ein Herzgift im engeren Sinne des Wortes.

Mit dem Di- und Trimethylaminchlorid theilt es die initiale und die auf die Blutdrucksdepression folgende Blutdrucksteigerung unterscheidet

sich hingegen von den früher genannten Substanzen dadurch, dass ihm die Einwirkung auf die Vaguscentra mangelt und dass es den peripheren Endapparat des Vagus zu erregen vermag. Die in manchen Fällen bei atropinisirten Thieren nach der Injection zu beobachtende Acceleration der Herzarbeit, dürfte möglicherweise desselben Ursprunges sein, wie jene nach Injection von Ammoniumsalzen und von Chlorhydraten des Mono-, Di- und Trimethylamins.

Ein Vergleich der Wirkung des Tetramethylammoniumchlorides mit den niedriger methylirten Mono-, Di- und Trimethylaminchloriden lehrt, dass mit der Zunahme der Methylirung die initiale Drucksteigerung, die durch Contraction der ausserhalb des Splanchnicusgebietes liegenden Gefässe entsteht, zunimmt und bei dem höchstmethylirten Derivate seinen Gipfel erreicht.

Die Wirkung auf das Herz ist beim Tetramethylammoniumchlorid eine schwächere, dieselbe nimmt mit der Zunahme der Methylirung (wie in der früherer Arbeit dargethan wurde) ab. Das Tetramethylammoniumchlorid als höchst methylirtes Derivat ist als Herzgift das schwächste.

Die Reizung der vasoconstrictorischen Nervenapparate war bei den Ammoniumsalzen hauptsächlich central, bei den ersten zwei Methylaminen central und peripher, beim Trimethylaminchlorid und Tetramethylammoniumchloride hauptsächlich peripher. Auch die Wirkung auf den Herzvagus ist bei den Ammoniumsalzen eine rein centrale, bei den drei methylirten Derivaten nimmt sie mit der Zunahme der Methylirung ab und wird beim Tetramethylammoniumchloride eine hauptsächlich periphere. Aus der vorliegenden und aus der früher publicirten Abhandlung ist ersichtlich, dass mit der Zunahme der Methylirung einige Wirkungen, wie die Wirkung auf das Herz und die Wirkung auf die Vasoconstrictoren- und Herzvaguscentra abnehmen, die Wirkung auf die Peripherie der eben genannten Apparate aber zunimmt.

Dem hochgeehrten Herrn Hofrath Professor Dr A. SPINA statte ich hier für die allseitige Unterstützung bei dieser Arbeit meinen aufrichtigsten Dank ab.

Prag, December 1901.

Laboratoire de la clinique dermosyphilopathique de l'Université de Turin. (Dir. Prof. Giovannini.)

Essai d'urologie syphilitique

PAR

LE Dr EDMOND BUFFA,
assistant.

Dans un article sur les altérations du sang dans l'infection syphilitique(1), paru en 1899, à la suite des expériences qu'il rapporte, l'auteur dit dans ses conclusions, qu'une des conséquences constantes du processus qu'il étudia, est la diminution de la résistance des globules rouges, toujours accompagnée d'une diminution de l'alcalinité du sang.

M'étant occupé dans des recherches précédentes de la diminution de la résistance des hématies des syphilitiques, la question des variations de l'alcalinité du sang ne pouvait me laisser indifférent.

Le sujet avait encore un intérêt d'actualité depuis les travaux de Joulie(2), publiés cette année. Non seulement ils contiennent des idées nouvelles sur l'alcalescence du sang, mais il nous donne un moyen nouveau, bien que détourné, de la vérifier.

Joulie, en effet, dans ses recherches sur l'acidité de l'urine commence par démontrer que le sang n'a qu'une réaction alcaline apparente, et prouve à la suite d'autres chimistes que le sang à l'état normal est un liquide de composition chimique ainsi que de fonction physiologique acide. Les bicarbonates sont, dit-il, les seuls sels à réaction alcaline sur le

(1) Sorrentino : *Contributo allo studio delle alterazioni del sangue nella sifilida ecc.* Giornale intern. delle scienze mediche 1899.

(2) Joulie : *Urologie pratique et thérapeutique nouvelle.* Paris, 1901.

papier de tournesol, pouvant exister dans le sang en présence de l'acide carbonique non combiné, et c'est justement à la présence de ces sels acides qu'est due la prétendue réaction alcaline du sang, quand on se sert du tournesol comme réactif.

Envisageant ensuite le rein comme dialyseur, il explique l'acidité de l'urine, supérieure à celle du sang dont elle provient, par le passage en grande quantité des phosphates acides à travers cet organe, qui retient la plus grande partie des bicarbonates moins solubles et moins dialysables.

De plus, grâce à la quantité moindre d'acide carbonique que contiennent les urines, il peut s'établir des réactions secondaires qui permettent aux bicarbonates alcalins de réagir sur les phosphates acides, d'où la réaction acide des urines au papier de tournesol, qui n'est plus masquée comme dans le sang, par la présence des bicarbonates alcalins.

Sans m'étendre davantage sur les théories de JOULIE qu'on trouvera expliquées d'une façon fort claire dans l'ouvrage cité plus haut, je rapporterai simplement les conclusions auxquelles il arrive, c'est-à-dire que le défaut d'acidité urinaire résulte d'une diminution de l'acidité du sang, due à une augmentation de la proportion des bicarbonates et des phosphates alcalins qu'il doit contenir normalement.

Ceci étant posé, il est évident que toutes les causes qui tendent à altérer la composition normale du sang, doivent avoir pour effet de faire varier les proportions des différents sels contenus en solution dans l'urine, d'où une variation, ainsi que nous venons de le voir, de l'acidité urinaire.

Ces variations devaient surtout être évidentes pendant le cours d'une infection syphilitique, puisque, selon la plupart des auteurs, de profondes modifications dans les différents éléments du sang se révèlent dès que le virus circule dans les vaisseaux, et ainsi que je l'ai dit, on y vérifie un degré d'acidité notable. De plus, il me semble qu'il est permis de supposer que ces mêmes altérations devaient disparaître sous l'action de la cure mercurielle, si vraiment les premières traces de mercure introduites dans la circulation suffisent pour ramener, comme l'affirment plusieurs auteurs, le sang à un état presque normal en agissant directement sur le virus.

C'est dans ce sens que j'ai dirigé mes recherches.

Le nombre des sujets sur lesquels j'ai pu expérimenter a été malheureusement très limité. Tous devaient présenter certaines conditions nécessaires. J'ai tenu à éliminer les causes d'erreurs pouvant provenir d'une influence autre que la syphilis; pour éviter l'emploi de la sonde, j'ai choisi mes sujets parmi les hommes, écartant avec soin ceux qui présentaient les moindres traces de blennorrhagie. Aucun d'eux ne devait avoir été

soumis précédemment à n'importe quelle cure mercurielle. Non seulement j'ai choisi parmi ceux jouissant d'une constitution aussi robuste que possible, mais surtout parmi ceux ne présentant pas et n'ayant jamais souffert d'aucune lésion rénale. J'ai tenu d'une façon toute spéciale à l'intégrité des fonctions de l'appareil urinaire pour me mettre à l'abri des erreurs que pouvait engendrer la présence dans les urines des sels de mercure en quantités appréciables. Car, ainsi que l'a prouvé mon ami le Dr G. Gola par des expériences faites avec les précautions scrupuleuses et l'habileté qui lui sont habituelles, dans le laboratoire de l'institut de Matière Médicale de notre Faculté, sous le contrôle du Prof. P. Giacosa, le mercure, surtout administré par la voie hypodermique, se comporte d'une façon diverse de ce que prétendent beaucoup d'observateurs. Il est impossible, la plupart du temps, d'en trouver les moindres traces dans les urines des individus dont les reins sont sains, même après un nombre assez élevé d'injections, pourvu que ce nombre et les doses ne soient pas exagérés. Le mercure après avoir été introduit dans l'organisme par la voie hypodermique et avoir circulé pendant un temps très court dans le sang, se fixe dans les tissus. Sans m'occuper des différentes localisations, je tiens simplement à rappeler que c'est dans le noyau probablement qu'il se fixe sous forme de nucléine ou de lécitalbumine, ainsi que Gola (1) le premier a pu le prouver. Son élimination a lieu lentement au fur et à mesure de la destruction des éléments.

La marche du processus que je viens de décrire, change absolument à la moindre altération rénale. On comprendra donc l'intérêt que j'ai eu à m'assurer du parfait fonctionnement de l'appareil urinaire des individus que j'ai choisis pour sujets de mes expériences.

Au cours de mes recherches j'ai suivi la méthode et les indications données par Joulie dans son ouvrage.

Les solutions titrées d'acide sulfurique ont été préparées dans le laboratoire de Matière Médicale.

Les densités de l'urine ont été déterminées au moyen d'une balance de Westphal.

Pour les quantités de liquide et les titrages, je me suis servi de burettes de Mohr.

J'ai tâché de conserver les urines émises pendant les 24 heures, mais malgré toutes les précautions les plus minutieuses, j'ai dû y renoncer,

(1) G. Gola : *Il comportamento del mercurio nell'organismo*. Archives intern. de Pharmacodynamie et Thérapie, vol. VII, p. 203.

ayant constaté que le degré d'acidité variait rapidement. J'ai dû donc me contenter des premières urines du matin, me conformant aux indications de JOULIE.

J'ai toujours gardé en observation mes sujets d'expérience une dizaine de jours avant de les soumettre à une cure quelconque, tâchant ainsi d'éliminer les effets du changement de vie et de nourriture.

Je n'ai pas cru devoir les soumettre à une alimentation spéciale, leur nourriture a été celle des malades de l'hôpital; je me suis contenté d'empêcher tout écart de diète trop prononcé. J'ai adopté ce procédé, voulant garder mes sujets pendant un temps assez long en expérience, tout en les laissant dans les conditions les plus normales possibles de vie. Aucun d'eux n'a gardé le lit.

Les observations que j'ai pu faire sont peu nombreuses (quatre sujets à peine); je me suis décidé cependant à en publier les résultats en attendant de pouvoir reprendre avant peu une nouvelle série d'observations que j'espère pouvoir exécuter d'une façon plus complète.

Les malades qui ont servi pour les recherches suivantes, ont été gardés pendant dix jours environ en observation sans être soumis à aucun traitement. Dans cet intervalle de temps j'ai fait à jours alternes des déterminations qui m'ont permis de me rendre compte de l'influence du séjour de l'hôpital.

L'ensemble des résultats obtenus, avant et pendant la cure, ont été réunis dans les tableaux suivants.

Ils ont été divisés de la façon suivante : Dans la première colonne (D) on trouve la valeur de la densité de l'urine; dans la deuxième (T) la température de l'urine; dans la troisième (S) la différence de la densité de l'urine et de l'eau à la même température; dans la quatrième (A) l'acidité de l'urine au litre; danc la cinquième enfin (RA) le rapport de l'acidité à l'excédent de densité.

Observation I.

No matric. 10830 ; lit no 14.

A., Charles, typographe, âgé de 18 ans.

Le sujet s'est toujours bien porté. L'infection syphilitique date des premiers jours du mois d'avril, il ne peut pas préciser l'époque probable.

Diagnostic : Syphilome initial dans la rainure balano-préputiale. Roséole. adénopathie.

Date de l'admission. le 26 avril 1901.

DATE	D	T	S	A	RA	
27 avril 1901	1026,0	16°	26,99	1,044	3,86	
30 » »	1020,4	16°	21,39	0,731	3,43	
2 mai 1901	1021,3	16°	22,29	0,724	3,25	
4 » »	1022,4	17°	23,50	0,586	2,49	
7 » »	1019,3	16°	20,29	0,707	3,48	
11 » »	1020,7	15°	21,54	0,655	3,04	
12 » »	1020,5	16°	21,49	0,850	3,95	
14 » »	1023,8	17°	24,96	0,680	3,44	
14 » »	—	—	—	—	—	1re injection de 0,05 gr. de calomel.
16 » »	1022,0	17°	23,16	0,663	2,90	
18 » »	1024,8	18°	26,14	0,714	2,73	
19 » »	1024,8	18°	26,14	0,714	2,73	
21 » »	1025,0	18°	24,34	0,820	3,36	
21 » »	—	—	—	—	—	2e injection de 0,05 gr. de calomel.
23 » »	1020,7	18°	22,04	0,705	3,19	
25 » »	1018,6	18°	19,94	0,619	3,10	
26 » »	1022,3	18°	23,64	0,505	2,13	
28 » »	1018,2	19°	19,74	0,586	2,97	
28 » »	—	—	—	—	—	2e injection de 0,05 gr. de calomel.
30 » »	1020,1	21°	22,53	0,635	2,82	
1 juin 1901	1018,0	23°	20,64	0,692	2,92	
2 » »	1017,5	25°	20,38	0,524	2,57	
4 » »	1015,5	24°	18,13	0,365	2,01	
4 » »	—	—	—	—	—	4e injection de 0,05 gr. de calomel.
6 » »	1017,5	24°	20,13	0,345	1,71	

Observation II.

N° matric. 10832 ; lit n° 5.

P., Gustave, maçon, âgé de 30 ans.

Dans son enfance, il a souffert de troubles intestinaux ; il y a deux ans, il contracte une blennorrhagie dont on ne retrouve plus aucune trace. Depuis le 3 décembre 1900, date du dernier rapport sexuel, jusqu'à la fin de février 1901, il dit n'avoir rien observé d'anormal sur son corps. C'est à cette époque qu'il aperçoit pour la première fois de petites ulcérations sur le frein du prépuce. Il les soigne pendant quelque temps avec de l'iodoforme, mais n'obtenant aucun résultat, il vient se faire visiter par nous et est admis dans notre clinique.

Diagnostic : Syphilome initial sur le frein du prépuce, roséole étendue à tout le corps ; adénopathie.

Date de l'admission, le 7 mai 1901.

DATE	D	T	S	A	RA	
12 mai 1901	1020,0	16°	20,99	0,646	2,07	
14 » »	1020,0	17°	21,16	0,629	2,97	
16 » »	1021,8	18°	23,14	0,612	2,64	
18 » »	1022,6	18°	23,94	0.714	2,98	
19 » »	1018,9	18°	20,24	0,612	3,02	
21 » »	1019,7	18°	21,04	0.619	2,93	
21 » »	—	—	—	—	—	1re injection de 0,05 gr. de calomel.
23 » »	1019,7	18°	20,44	0,552	2,70	
25 » »	1020,1	18°	21,44	0,554	2,58	
26 » »	1021,1	18°	22,44	0,539	2,40	
28 » »	1020,9	19°	22,64	0,537	2,37	
28 » »	—	—	—	—	—	2e injection de 0,05 gr. de calomel.
30 » »	1019,3	21°	21,25	0,635	2,99	
1 juin 1901	1019,7	22°	21,87	0,418	1,91	
2 » »	1020,8	24°	23,43	0,572	2,44	
4 » »	1022,2	24°	24,83	0,477	1,92	
4 » »	—	—	—	—	—	3e injection de 0,05 gr. de calomel.
6 » »	1020,5	24°	23,13	0,804	3,47	
8 » »	1015,6	23°	17,99	0,596	3,31	
11 » »	1015,5	24°	18.13	0,612	3,37	
11 » »	—	—	—	—	—	4e injection de c,05 gr. de calomel.
13 » »	1014,3	23°5	16,81	0,543	3,23	
15 » »	1015,7	23°	18,09	0,528	2,92	
16 » »	1015,8	20°5	18,6 ·	0,558	3,16	
18 » »	1013,6	21°	15,55	0,376	2,42	
20 » »	1016,5	19°5	18,14	0,521	2,87	

Observation III.

N° matric. 10836; lit n° 3.

B., Jean-Baptiste, manœuvre, âgé de 27 ans.

Il n'a jamais été malade. Après sept mois d'abstinence complète, le patient, il y a quatre mois environ, eut des rapports avec une fille publique, à la suite desquels il est atteint d'uréthrite simple qui disparaît rapidement d'une façon complète sans aucun soin.

Depuis 15 jours il s'est aperçu que son corps est couvert de taches rouges, et après une visite passée à l'hôpital de Marseille, on l'expédie immédiatement à notre clinique, où il arrive le 22 mai sans avoir subi aucun traitement.

Diagnostic : Chancre syphilitique sur le bord du prépuce, condilomes plans ulcérés à la région génitale, syphiloderme papuleux sur tout le tronc, adénopathie.

Date de l'admission, le 22 mai 1901.

DATE	D	T	S	A	RA	
23 mai 1901	1026,4	18°	27,24	0,535	1,96	
25 » »	1016,8	19°	18,34	0,521	2.83	
26 » »	1021,0	18°	22,36	0,700	3,13	
28 » »	1019,3	19°	20,40	2,309	1,51	La température du sujet est de 37°2 (phénacétine).
30 » »	1013,9	21°	15,85	0,277	1,74	La température du sujet est de 38°1 (phénacétine).
2 juin 1901	1022,0	24°	24,63	0.747	3,03	La tempér. = 37°3 depuis le 31 mai.
4 » »	—	—	—	—	—	1re injection de 0,05 gr. de calomel.
6 » »	1025,4	24°	28,03	0,418	1,49	
8 » »	1625,6	23°	28,19	0,659	2,33	
11 » »	1020,8	24°	23,43	0,520	2,21	Les urines ont été recueillies avant l'injection.
11 » »	—	—	—	—	—	2e injection de 0,05 gr. de calomel et 2 gr. de KI.
13 » »	1023,2	23°5	26,01	0,528	2,03	
15 » »	1024,9	23°	27,29	0,634	2,32	
16 » »	1026,7	20°5	28,54	0,755	2,64	
18 » »	1014,3	21°	16,25	0,342	2,10	
18 » »	—	—	—	—	—	On fait une 3e injection de 0,05 gr. de calomel, après avoir recueilli les urines KI. 3 gr.
20 » »	1018,9	19°5	20,54	0,610		
22 » »	1017,3	22°	19.47	0,551		
23 » »	1021,1	22°5	23.38	0,575		
25 » »	1022,5	23°5	25,01	0,663		
25 » »	—	—	—	—	—	4e injection de 0,05 gr. de calomel, après avoir recueilli les urines KI. 4 gr.
27 » »	1026,0	24°	28,63	0,767	2,65	
29 » »	1026,0	24°	28,63	0,761	2,65	
1 juillet 1901	1027,8	24°5	30,55	0,699	2,28	
2 » »	1026,1	24°5	28,85	0,796	2,76	
4 » »	1015.6	21°5	17,66	0,398	2,25	
5 » »	1021,8	21°	23,75	0,420	1,77	

Observation IV.

N° matric. 10843; lit n° 4.

C., François, coiffeur, âgé de 34 ans.

Le sujet a toujours joui d'une excellente santé jusqu'au moment où il fut atteint par la présente infection qui date de l'année 1895. Il déclare avoir eu à cette époque des rapports contre nature avec un camarade syphilitique. Il dit avoir senti immédiatement après et pendant les jours suivants, une sensation douloureuse, et avoir dû se soigner avec des désinfectants ordinaires pour des excoriations qui disparurent rapidement. Deux mois après, dit-il, apparait une nouvelle ulcération qui, malgré les mêmes soins, disparaît difficilement, et peu de temps après, son corps se couvre de taches rouges et de pustules. Le malade ne veut se soumettre à aucun traitement et ces lésions disparaissent lentement pour reparaître, affirme-t-il, à intervalles assez rapprochés pendant les années

suivantes. Atteint enfin d'ulcères aux muqueuses de la bouche et aux lèvres, il se décide à entreprendre un traitement énergique et se présente à notre clinique.

Diagnostic : Roséole à taches larges et pâles, papules sur les membres supérieurs et surtout sur la paume des mains, plaques muqueuses dans la bouche, adénopathie.

Date de l'admission, le 3 juin 1901.

DATE	D	T	S	A	RA	
4 juin 1901	1028,3	24°	30,93	0,747	2,41	
6 » »	1028,4	24°	31,03	0,973	3,13	
8 » »	1021,4	23°	23,79	0,942	3,95	
11 » »	1023,7	24°	26,35	0,765	2,90	
11 » »	—	—	—	—	—	1re injection de 0,05 gr. de calomel.
13 » »	1023,4	23°5	25,91	0,422	1,63	
15 » »	1022,2	23°	24,59	0,634	2,57	
16 » »	1024,0	20°5	25,84	0,588	2,27	
18 » »	1022,2	21°	22,15	0,665	2,75	
18 » »	—	—	—	—	—	2e injection de 0,05 gr. de calomel.
20 » »	1025,3	19°5	26,94	0,819	3,04	
22 » »	1022,2	22°	24,37	0,506	2,07	
23 » »	1022,2	22 5	24,48	0,295	1,20	
25 » »	1026,0	23°5	28,51	0,737	2,58	
25 » »	—	—	—	—	—	3e injection de 0,05 gr. de calomel.
27 » »	1022,4	24°	25,03	0,132	0,53	On a administré au sujet 1 gr. de bicarbonate de soude à mon insu.
29 » »	1014,6	24°	17,23	0,662	3,84	
30 » »	1019,6	24°5	12,35	0,462	3,74	
1 juillet 1901	1017,5	24°5	20,25	0,457	2,25	
2 » »	1019,3	24°5	22,05	0,666	3,02	
2 » »	—	—	—	—	—	4e injection de 0,05 gr. de calomel.
4 » »	1019,8	21°5	21,86	0,642	2,93	
5 » »	1017,5	21°	19,45	0,637	3,27	

Je crois parfaitement inutile d'entrer dans beaucoup de détails pour analyser les résultats obtenus. Un simple coup d'œil, jeté sur les tableaux qui résument mes expériences, prouve suffisamment que nous sommes loin de ce qu'on pouvait attendre d'après les recherches faites auparavant.

JOULIE indique comme valeur normale de l'urine pour un sang normal 4,55 °/₀ de l'excédent de densité de l'urine sur l'eau, et admet que l'on peut, en tenant compte des écarts physiologiques et individuels, placer le taux normal entre 4 et 5.

Nous n'arrivons dans aucun de nos sujets à 3,50 avant la cure; nous pouvons donc retenir : que si la syphilis a une influence sur l'acidité du sang, cette influence se fait sentir par une diminution de l'acidité normale.

Quant à l'action de la cure mercurielle, dont je ne veux pas encore parler, me réservant de l'étudier largement à fond, contrôlant les résultats par d'autres méthodes, elle serait hypoacidifiante.

Donc, ainsi que j'ai pu le certifier par d'autres expériences, l'action du mercure dans la syphilis, spécifique pour les lésions cutanées, serait de beaucoup réduite d'importance quant aux effets généraux.

Ne voulant pas, pour le moment, entrer dans la discussion fort épineuse de l'action du mercure dans la syphilis, je me contente de poser un nouveau point d'interrogation.

Mes conclusions seront brèves, me bornant à dire :

Que les urines des syphilitiques loin d'être hyperacides sont absolument hypoacides ; cette hypoacidité est peu ou point atténuée par le séjour de l'hôpital.

D'après les conclusions posées dans les premières pages, j'en déduis que dans le sang des syphilitiques, l'acidité, non seulement n'a subi aucune augmentation, mais au contraire diminue considérablement.

Que la cure mercurielle, agissant sur l'organisme en général et probablement sur le foie en particulier, exagère l'hypoacidité des urines et par conséquent du sang.

Enfin que la cure mercurielle, spécifique pour les manifestations syphilitiques, est insuffisante pour obtenir la guérison complète.

D'où la nécessité d'associer à cette cure un traitement ayant une action sur les fonctions de nutrition en général et spécialement sur les fonctions du foie et du système nerveux.

Turin, décembre 1901.

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER DEUTSCHEN UNIVERSITÄT PRAG.

Erklärung an Dr E. F. Bashford

VON

J. POHL.

In Bezug auf die Erwiederung Dr E. F. BASHFORD's p. 451 dieses Bandes entgegne ich Folgendes :

I. Ich habe *nirgends* behauptet Thiere gegen Solanin immunisirt zu haben. Meine Mitteilungen beschätigen sich stets nur mit den Ausgangsversuchen der Resistenzänderung des *Blutserums* mit Solanin gefütterter Thiere, sodann *vorwiegend* und *ausführlich* mit dem Einfluss des sauren Phosphats nach Zusatz zu Blut *extra corpus*.

Als Beleg verweise ich auf den Schlusspassus meiner ersten Mitteilung (1) « Es ist an einem isolirten Gewebe — der Blutflüssigkeit, — die Antitoxinwirkung *extra corpus* erprobt worden ».

Die Sätze in Dr BASHFORD's Erwiederung, p. 454 « er (POHL) behauptet Tiere gegen Solanin immunisirt zu haben », und p. 456, « der Grundstein zu POHL's ganzer Behauptung... eine wirkliche Immunität gegen Solanin zu erzeugen », bedeuten eine Erfindung des H. BASHFORD : immer drehte es sich um Resistenzänderung des Blutes oder des Serums, *niemals* um allgemeine Immunisirung.

II. Das die Resistenzsteigerung des Hundeblutes (Vers. 7, p. 441 meiner 2e Mitteilung) nach Solaninfütterung nur auf Gegenwart saurer Producte beruhte, ist *einwandsfrei* durch die gelungene Aufhebung des Phenomens durch Alkalisirung erwiesen.

(1) P. 8, Bd. VII dieses Archivs.

III. P. 452 der Erwiederung wirft mir BASHFORD vor, ich hätte nicht gesagt, ob das Antitoxin durch Umwandlung des Toxins entstanden sei. Dem sei einfach ein Passus von p. 6 der ersten Mitteilung gegenübergestellt : « es besteht somit für diesen Fall der *Blutimmunität* gar *keine directe chemische Beziehung* zwischen Toxin und Antitoxin. »

IV. Die Versuche mit Saponin, Digitalin, Cyclamin, mit denen Dr BASHFORD 5 Seiten seiner Erwiederung füllt, stehen *in gar keinem Zusammenhang* mit dem Thema der strittigen Erklärung der Resistenzsteigerung roter Blutkörperchen nach Zusatz von saurem Phosphat.

V. Die von mir zuerst beobachteten Phænomene der Schutzwirkung der Normalsera gegen haemolytische Gifte, die Steigerung der Normalresistenz durch Zusatz sauer Producte *stehen völlig sicher* und es ist daher auch in Zukunft gestattet, sie mit Einzelheiten der künstlichen Immunisirung gegen Bacteriengifte, gegen Haemolysine, insbesonders gegen Versuche *extra corpus* mit solchen in Analogie zu setzen.

Die Schlusswendung Dr BASHFORD's, meine Versuche wären grundfalsch ist nur grob, aber in keiner Richtung massgebend.

